
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

IMMUNISATION ANTIRABIQUE AU MOYEN DES INJECTIONS INTRAVASCULAIRES DU VIRUS RABIQUE

PAR LE D^r V. KRASMITSKI

Travail du laboratoire de M. le professeur Wyssokowicz, de l'Institut bactériologique à Kiew.

Parmi les diverses modifications auxquelles a été soumis le traitement pastorien de la rage, la méthode de dilution de M. Högyes mérite une attention particulière. M. Högyes prend pour point de départ le fait que la dessiccation, en diminuant la virulence du virus rabique, ne change pas sa qualité, mais seulement sa quantité.

En effet, le lapin inoculé par du virus rabique fixe desséché succombe à la rage, après une période d'incubation dont la durée dépasse la durée normale; cependant sa substance bulbaire, inoculée au lapin suivant, lui donne la maladie avec la durée d'incubation normale.

Cette idée que le principe virulent varie en quantité et non en qualité, dans la substance nerveuse desséchée, a conduit M. Högyes à étudier la virulence de diverses dilutions du virus non desséché.

Il est arrivé aux résultats suivants :

La dilution de 1/6,000-10,000 correspond à la dessiccation de 14-8 jours, le virus ainsi dilué n'étant plus virulent.

La dilution de 1/500 ne tue pas tous les lapins et la durée d'incubation est très longue.

La dilution de 1/300-250 présente déjà une virulence considérable.

Les nombreuses (70) expériences faites ensuite sur les chiens ont fait voir à M. Högyes qu'au moyen de ces dilutions, on peut protéger les animaux contre tout mode d'inoculation du virus rabique, même du virus fixe. Cependant il faut distinguer l'inoculation intracrânienne (ou intraoculaire) de l'infection sous-cutanée; tandis que dans le premier cas les vaccinations ne sont actives que faites avant l'introduction du virus, dans le deuxième on a des résultats positifs en faisant les vaccinations avant et après l'infection. Ce dernier fait a été mis en évidence par une expérience dans laquelle 8 chiens mordus par un chien enragé, et traités ensuite par les dilutions de M. Högyes, survécurent, tandis que parmi les 8 chiens de contrôle, 5 ont contracté la rage.

Convaincu de l'innocuité et de l'efficacité de sa méthode, M. Högyes a fait vacciner le personnel de l'Institut de Buda-Pest et ensuite traiter les mordus, en employant les dilutions de 1/10,000 jusqu'aux dilutions de 1/100, cette série étant répétée 3-7 fois suivant la gravité du cas.

En même temps, dans le laboratoire de M. Pasteur de même que dans les autres instituts antirabiques, on a cherché une méthode de traitement plus intensive, afin d'éviter les rares insuccès qui suivaient de temps en temps le traitement employé jusqu'alors. D'après les données statistiques, fournies pendant un grand nombre d'années par les différents instituts antirabiques, on constate que 1,50/0 des personnes mordues ont contracté la rage malgré le traitement. Si on déduit de ce chiffre les cas où la maladie s'est déclarée pendant le traitement ou dans les 15 jours qui ont suivi la dernière injection (délai regardé comme nécessaire pour le développement de l'immunité), le pourcentage diminue, il tombe à 0,7-0,80/0.

Ces insuccès — mettant à part les cas où l'immunité n'apparaît pas en vertu de particularités individuelles — trouvent leur explication dans la lenteur avec laquelle l'état réfractaire se développe dans l'organisme; il faut au moins 20 jours de traitement pour que l'immunité puisse apparaître; plus de 15 jours sont nécessaires pour que l'effet des inoculations successives se produise. Si, avant ce terme, le virus rabique atteint

le système nerveux central, la vaccination restera sans nul effet.

La question est donc d'accélérer le processus de l'immunisation. Il semble démontré que le virus rabique se propage, du point d'inoculation (morsure faite par un animal enragé) jusqu'aux centres nerveux, en suivant les voies nerveuses (ce qui nous explique la variabilité et quelquefois la longueur des périodes d'incubation); tandis que les substances immunisantes introduites pendant les vaccinations dans l'organisme s'y propagent par le sang.

Injectées dans le tissu cellulaire sous-cutané, elles y restent pendant 24 à 48 heures, — comme l'a démontré M. Kraïouchkine — avant de passer dans le système lymphatique, interposé entre le point d'inoculation et le sang. Tout naturellement, dans le but d'accélérer le procès d'immunisation, on a eu depuis longtemps l'idée d'injecter les substances immunisantes directement dans le sang. Mais avant de le faire, deux questions doivent être résolues : premièrement, celle de l'innocuité des injections intravasculaires; en second lieu, celle de leur efficacité. M. Helmann, le premier, fit voir que si l'on injecte dans le tissu sous-cutané, même de grandes quantités du virus fixe, les animaux en expérience peuvent échapper à la maladie, à la condition que l'inoculation soit faite à l'abri des filets nerveux.

Le même savant ainsi que d'autres expérimentateurs ont injecté de grandes quantités d'émulsions épaisses et virulentes dans la cavité péritonéale sans rendre les animaux malades. Le fait est facile à comprendre puisque le virus rabique ne peut s'implanter que sur le tissu nerveux.

L'introduction du virus dans le sang est-elle inoffensive ?

M. Pasteur, en expérimentant sur les chiens, a constaté que l'injection du virus rabique (salive des animaux enragés) dans le sang, leur donne la rage tout aussi infailliblement que l'inoculation intracrânienne. Plus tard, il a constaté que le virus introduit dans le sang, en très petites quantités, n'occasionne parfois aucune maladie, mais n'exerce également aucune action immunisante¹.

1. De quelques expériences sur les moutons, M. Galtier conclut que les injections intravasculaires du virus rabique (il opérait aussi avec la salive des animaux enragés) immunisent les herbivores au lieu de leur donner la rage. Cet expérimentateur éprouvait les animaux immunisés par l'inoculation de bave rabique, sous la peau ou dans la peau. Ce procédé ne donnant pas sûrement la rage, ces conclusions ne pouvaient être acceptées définitivement.

La question a été élucidée par MM. Roux et Nocard. Ces savants ont eu recours aux injections intravasculaires de la substance cérébrale du lapin, ayant succombé soit au virus rabique fixe, soit au virus des rues. Pour s'assurer de la valeur de l'immunité acquise, ils éprouvaient les animaux vaccinés par inoculation intraoculaire, inoculation qui est toujours mortelle. Dans leurs expériences, MM. Roux et Nocard ont opéré sur 10 moutons, 3 chèvres et 1 bouc, en injectant dans les veines de 0,5 à 5 c. c. d'émulsion de cerveau de chiens enragés ou de lapins de passage; après des délais variables ils les inoculèrent avec du virus rabique des rues. Tous survécurent. Mais quand ils ont éprouvé leurs animaux avec du virus fixe, 7 sur 11 contractèrent la rage, 4 seulement se sont montrés immunisés.

Dans la deuxième série d'expériences, MM. Roux et Nocard ont injecté dans la veine de 3 vaches et de 3 veaux, en une fois, 10-20 gouttes d'émulsion du cerveau de lapin de passage; 7 semaines après ils ont fait à ces animaux des inoculations intraoculaires du virus des rues; tous contractèrent la rage après une période d'incubation quelque peu prolongée.

Enfin les deux savants ont pratiqué des injections intraveineuses aux moutons et aux brebis, après les avoir soumis préalablement à l'infection intraoculaire par le virus rabique des rues, et sont arrivés aux conclusions suivantes :

1) Une vaccination est faite 2 jours après l'infection, tous les moutons (au nombre de 3) contractent la rage.

2) Une vaccination (12 c. c. d'émulsion) est faite 2 heures après l'infection, sur 3 moutons 1 résiste à la maladie.

3) Deux vaccinations sont faites à intervalle de 2 jours, les résultats varient suivant la durée de temps écoulé entre le moment de l'infection et la première vaccination. Ainsi, lorsque la première vaccination avait eu lieu 24 heures après l'injection, 1 seul mouton succomba sur 4; tous les moutons prirent la rage lorsque la première inoculation vaccinale était faite 2 à 3 jours après l'inoculation. La quantité d'émulsion injectée variait de 0,5 à 3 c. c.

Ainsi, MM. Roux et Nocard ont confirmé l'opinion de M. Galtier, sur la possibilité de rendre les animaux réfractaires à la rage, au moyen des injections intravasculaires; ils ont montré, en outre, que cet état réfractaire se développe relativement vite,

et peut protéger l'animal contre l'injection la plus dangereuse, l'injection intraoculaire, à la seule condition que la première vaccination soit faite bientôt (24 heures) après l'injection.

MM. Roux et Nocard ajoutent qu'on peut introduire impunément, même de grandes quantités de virus dans le sang du chien. Néanmoins ils ne parlent de l'innocuité des injections intravasculaires et de leur efficacité, au point de vue du développement de l'immunité, que pour les herbivores, qui pour eux se comportent différemment des autres animaux, chien et lapin par exemple.

M. Helmann, qui traite la même question, croit que les injections intraveineuses peuvent donner la rage, si le virus rabique passe du sang dans le système nerveux central. Ce passage à travers les parois vasculaires, d'après M. Helmann, est favorisé ou empêché suivant la structure des capillaires et leur épaisseur plus ou moins grande. Ce qui expliquerait le fait que les lapins et les jeunes chiens succombent toujours aux injections intravasculaires; les chiens adultes résistent quelquefois, et les chèvres, les moutons, les vaches, animaux de plus grande taille, sont beaucoup plus résistants. Parmi les savants russes qui ont travaillé sur la question dont nous parlons en ce moment, c'est M. Protopopoff qui est arrivé aux résultats les plus intéressants.

M. Protopopoff a voulu donner au chien une immunité assez considérable pour que cet animal puisse résister ensuite à l'inoculation intracrânienne du virus fixe. Pour atteindre cet état, au moyen des injections sous-cutanées, il faudrait en faire un nombre très grand. C'est pourquoi M. Protopopoff a eu recours aux injections intravasculaires de l'émulsion ordinaire de cerveau du lapin de passage. Il l'introduisait dans la veine fémorale.

Dans la première série d'expériences, M. Protopopoff opérait avec les cerveaux desséchés : 3 vaccinations avec le virus âgé de 9-5 et de 2 jours ont donné des résultats négatifs, de même que 2 vaccinations avec le virus âgé de 6 et 2 jours; mais 3 injections de 6-3 et de 1 jour, ou bien 2 du vaccin de 5 et de 1 jour, ont été suivies de résultats positifs : les chiens inoculés sous la dure-mère avec le virus fixe, 15 jours après la vaccination, se sont montrés réfractaires à la rage.

Dans la deuxième série d'expériences, M. Protopopoff prépa-

rait ses vaccins antirabiques de la manière suivante : les fragments de la moelle épinière des lapins de passage, soumis préalablement à la dessiccation pendant 5 jours et 1 jour, ont été conservés dans du bouillon glycérimé (30 glycérine p. 100 de bouillon) jusqu'au moment où ils n'étaient plus virulents; émulsionnés ensuite, ils sont injectés aux 3 chiens dans la veine fémorale; 8 jours après, on fait à ces chiens une inoculation intracrânienne du virus rabique des rues : 1 seul sur 3 prend la rage. Donc, les moelles rabiques desséchées pendant 5 jours et 1 jour, de même que les moelles rendues non virulentes par la conservation dans du bouillon glycérimé se sont montrées, entre les mains de M. Protopopoff, des vaccins efficaces.

Dans le même ordre d'idées, M. Moncet communiqua, il y a 2 ans, un cas intéressant : 3 vaches avaient été mordues par un chien enragé; ce chien étant tué, avec son cerveau M. Moncet prépara une émulsion qu'il injecta dans la veine jugulaire des vaches mordues, à la dose de 5 c. c. pour chaque vache; toutes les trois échappèrent à la rage.

Voilà toute une série d'opinions contradictoires sur la question de l'innocuité et de l'efficacité, au point de vue de l'immunisation, des injections intravasculaires du virus rabique.

Ce problème n'étant pas encore tranché et présentant un grand intérêt théorique et pratique, j'ai eu l'idée de faire une série d'expériences dans le but de contribuer à sa résolution.

Déjà, *a priori*, on peut penser que l'introduction, dans le système sanguin, du virus rabique émulsionné, produira une infection, s'il y a formation d'une embolie, dans un capillaire du tissu nerveux, par les particules solides suspendues dans ladite émulsion. C'est pourquoi, pour éviter cet inconvénient, on aura soin, tout d'abord, de préparer une émulsion aussi fine et aussi homogène que possible et de la diluer suffisamment pour qu'elle puisse circuler librement dans les capillaires les plus fins. Alors, on pourra espérer que les particules du virus rabique, circulant librement, et étant séparées du tissu nerveux par les parois endothéliales des vaisseaux sanguins, seront inoffensives.

En second lieu, on pourra attendre qu'elles aient aussi une action immunisante, car distribuées par le sang dans les différents organes, elles seront résorbées par les éléments phagocy-

taires, et de la sorte seront réalisées les conditions dans lesquelles apparaîtra l'état réfractaire.

Pour prouver ces deux thèses j'ai conduit mes expériences de la façon suivante :

L'émulsion est préparée avec les corps quadrijumeaux du lapin de passage (virus fixe) et la solution physiologique de NaCl, dans le rapport d'une partie de substance nerveuse pour trente de liquide ; elle est tellement fine et homogène qu'elle traverse facilement trois réseaux métalliques, superposés, excessivement fins (le diamètre des mailles du réseau est de 0 $\frac{1}{2}$,2) ; elle est ensuite diluée encore une fois avec la solution physiologique, dans le rapport de 1 p. à 10-15. Ainsi préparée, cette émulsion est à peu près transparente, dans les couches peu épaisses ; elle est en même temps virulente en injections intracrâniennes.

Avec cette émulsion j'ai fait des vaccinations sur les lapins (veine auriculaire externe) et sur les chiens (veine saphène interne du membre postérieur). Si, pendant les vaccinations, on a scrupuleusement tenu compte de toutes les précautions exigées : chauffage de l'émulsion à 37°, injection lente, rigoureuse propreté de la seringue stérilisée, le lapin et le chien supportent l'injection parfaitement bien. Si, au contraire, quelque une de ces précautions a été omise, l'embolie se forme et il m'est arrivé de voir les lapins mourir sur place.

Dans la première série d'expériences, j'ai cherché à obtenir une immunité stable en injectant de faibles quantités de l'émulsion virulente diluée. Ainsi conçues, mes expériences m'ont donné les résultats suivants :

a) On introduit, une fois, dans la veine de 9 lapins de 1 à 3 et 5 c. c. d'émulsion du virus fixe, passée sur toile métallique, et diluée. Ensuite, après des délais variant de 3 à 16 jours, ces lapins sont inoculés sous la dure-mère, avec du virus fixe : 8 prennent la rage, 1 échappe à la maladie. (Tableaux I et II.)

b) On introduit 1 c. c. d'émulsion de virus fixe, filtrée et diluée, dans la veine de 6 lapins, et on répète l'injection du 5^e au 9^e jour. Puis, de 8 à 21 jours après la première vaccination, on leur inocule sous la dure-mère de l'émulsion épaisse du virus fixe : 2 de ces lapins, l'un qui a été éprouvé 8 jours après et l'autre 21 jours après la première injection, contractent la rage en même temps que les lapins de contrôle ; un troi-

sième succombe après une période d'incubation prolongée de 2 jours ; 3 restent sains. (Tableau I.)

TABLEAU I

ESSAIS D'IMMUNISATION DES LAPINS, AU MOYEN D'INJECTIONS INTRA VEINEUSES, SUIVIES D'INFECTION INTRACRANIEUNE PAR L'ÉMULSION ÉPAISSE DU VIRUS FIXE.

Nos d'animaux en expérience.	NOMBRE d'injections	QUANTITÉ d'émulsion injectée.	MODE d'infection.	TEMPS écoulé entre les injections et l'infection.	RÉSULTATS OBTENUS
1	1	1 c. c.	Inoculation intracranienne d'émulsion épaisse du virus fixe.	Injection faite 3 jours avant l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de contrôle (lapins de passage).
2	1	1 c. c.	Idem.	Inject. 9 jours avant l'infection.	Idem.
3	1	1 c. c.	—	Inject. 14 jours av. l'infection.	—
4	1	1 c. c.	—	Idem.	—
5	1	2 c. c.	—	Inject. 16 jours av. l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de contrôle.
6	1	3 c. c. 5	—	Inject. 8 jours avant l'infection.	Idem.
7	1	3 c. c. 5	—	Inject. 18 jours av. l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de contrôle (lapins de passage).
8	2	Par 1 c. c. 5	—	Inj. faites 8 et 3 j. avant l'infect.	Idem.
9	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 21 et 5 j. avant l'infect.	—
10	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 12 et 7 j. avant l'infect.	Période d'incubation de 7 jours ; meurt après 13 jours.
11	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 21 et 8 j. avant l'infect.	Résiste à la rage.
12	2	Par 0 c. c. 9	—	Inj. faites 18 et 5 j. avant l'infect.	Idem.
13	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 13 et 5 j. avant l'infect.	—

Les résultats sont peu satisfaisants dans l'expérience *a*, 1 lapin sur 9 est rendu réfractaire ; dans l'expérience *b*, 3 animaux résistent. Mais il y a à tenir compte de ce que cette infection diffère de celle qui a lieu dans les conditions naturelles : l'animal mordeur introduit dans la morsure le virus (virus des rues) très dilué avec la salive, tandis que dans les expériences précédentes, le lapin est infecté par l'émulsion épaisse du virus fixe. C'est pourquoi dans l'expérience suivante j'ai inoculé mes lapins sous la dure-mère (infection toujours mortelle) avec de l'émulsion filtrée et diluée, et alors les vaccinations intraveineuses ont donné des résultats plus encourageants. Voilà cette expérience en détail :

c) On introduit dans le sang de 10 lapins, 1-1,5-3 c. c. d'émulsion ; 2 fois l'injection est répétée de 3 à 9 jours après. Puis, de 5 à 21 jours après la première vaccination, on leur injecte sous la dure-mère de l'émulsion filtrée et diluée, mais toujours virulente, du virus fixe. Un seul prend la maladie en même temps que les lapins de contrôle, c'est le lapin qui a été trépané 7 jours après la première injection ; 2 autres lapins deviennent enragés après une période d'incubation prolongée de 2 jours ; 7 restent sains ; parmi ces derniers se trouve un lapin qui a reçu une inoculation intracrânienne du virus fixe 5 et 2 jours après les vaccinations. (Tableau II.)

L'examen détaillé des résultats nous montre que chez les lapins qui ont reçu deux injections intraveineuses de virus fixe, l'état réfractaire apparaît 15 jours après la première injection, et qu'ils résistent même au virus fixe inoculé sous la dure-mère.

On arrive à rendre les lapins réfractaires au virus de la rage des rues en leur injectant l'émulsion de virus fixe dans les veines, et cela dans un délai plus court, ainsi que le démontrent les expériences suivantes :

On introduit une fois dans la veine de 4 lapins de 0,5 à 3 c. c. d'émulsion filtrée du virus fixe ; après 16-45 jours, les lapins sont trépanés et inoculés sous la dure-mère avec du virus rabique des rues. Tous contractent la rage. La quantité employée d'émulsion a été trop faible. A deux lapins, au lieu de 3 c. c., injectons, toujours dans la veine, 5 c. c. d'émulsion du virus fixe, et éprouvons-les avec du virus des rues, 10-12 jours après l'injection (au lieu de 16-45 comme dans l'expérience précédente) ils résistent à l'infection. De même, à 4 lapins faisons 2 injec-

TABLEAU II

ESSAIS D'IMMUNISATION DES LAPINS AU MOYEN D'INJECTIONS INTRA VEINEUSES,
SUIVIES D'INFECTION INTRACRANIENNE, PAR L'ÉMULSION FILTRÉE ET
DILUÉE DU VIRUS FIXE.

Nos d'animaux en expérience.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉS d'émulsion injectée.	MODE d'infection.	TEMPS écoulé entre les injections et l'infection.	RÉSULTATS OBTENUS.
1	2	Par 1 c. c.	Inoculation intracrânienne d'émulsion fil- trée et diluée du virus fixe.	Injections faites 14 et 6 jours avant l'infection.	Période d'incuba- tion de 7 jours; meurt après 11 jours.
2	1	2 c. c.	Idem.	Inj. 14 j. av. l'inf.	Résiste à la rage.
3	2	1 c. c. et 1 ^{re} , 5	—	Inj. faites 20 et 6 j. avant l'infect.	Idem.
4 poids de 1130 gr.	1	2 c. c.	—	Inj. 16 j. avant l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de con- trôle (lap. de passage).
5 p. de 950 gr.	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 16 et 7 j. avant l'infec- tion.	Résiste à la rage.
6 p. de 1000 gr.	2	2 c. c. et 1 ^{re} , 3	—	Inj. faites 21 et 12 jours avant l'infection.	Idem.
7	2	Par 3 c. c.	—	Inj. faites 15 et 7 jours av. l'inf.	—
8	2	Par 1 c. c.	—	Inj. faites 14 et 3 jours avant l'in- fection.	Mort. Période d'in- cubation prolongée de 36 h. en comparaison avec les lapins de con- trôle (lap. de passage).
9	2	Par 3 c. c.	—	Inj. faites 11 et 4 jours av. l'inf.	Résiste à la rage.
10	2	Par 3 c. c.	—	Inj. faites 5 et 2 jours avant l'in- fection.	Inoculé encore la deuxième fois sous la dure-mère du virus fixe, résiste à la rage.
11	2	Par 3 c. c.	—	Inj. faites 7 et 4 jours avant l'in- fection.	Prend la rage en même temps que les lapins de contrôle (lap de passage).
12	2	Par 3 c. c.	—	Inj. faites 14 et 11 jours av. l'inf.	Résiste à la rage.
13	2	Par 3 c. c.	—	N'a pas été inoculé, car le 7 ^e jour après la 2 ^e injection il succombe à la rage.	

tions intraveineuses de faibles quantités d'émulsion du virus fixe, le premier reçoit 0,5 c. c., le second 1 c. c., le troisième 1,5 c. c., le quatrième 3 c. c. à chaque injection; après 10 jours inoculons-les sous la dure-mère, avec du virus des rues, ils résistent à la rage à l'exception du premier qui n'a reçu que 2 fois 0,5 c. c. d'émulsion (Tableau III). Toute cette série d'expériences nous prouve l'efficacité des injections intraveineuses d'émulsion diluée.

Pour la comparer avec l'efficacité des injections intrapéritonéales et sous-cutanées, j'ai fait les expériences suivantes :

J'ai introduit dans le péritoine de 3 lapins 5-8 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe et dans le péritoine d'un quatrième lapin 2 fois 5 c. c. : 7-17 jours après, je les inocule sous la dure-mère avec du virus fixe; 3 résistent à la rage, un seul succombe, celui qui a été vacciné une seule fois et trépané 10 jours après la vaccination.

Les injections intrapéritonéales se montrent donc efficaces; mais il faut tenir compte de la quantité d'émulsion employée, quantité beaucoup plus grande que dans le cas des injections intravasculaires.

La même observation est à faire par rapport aux injections sous-cutanées. Sur 7 lapins, qui ont reçu en 2 fois 8 et 20 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe, et qui, 12-25 jours après, ont été inoculés sous la dure-mère, avec du virus rabique des rues ou bien avec du virus fixe, un seul succombe, celui qui a reçu seulement 8 c. c. d'émulsion. Mais si, au lieu de l'émulsion épaisse, on injecte sous la peau l'émulsion diluée, utilisée pour les injections intraveineuses, on ne donne pas l'immunité. Deux lapins, qui avaient reçu dans le tissu sous-cutané 2 fois 5 c. c. de cette solution diluée, ont été éprouvés par inoculation sub-durale, ils ont succombé en même temps que les témoins. (Tableau IV.)

Donc, en tenant compte de la quantité d'émulsion employée pour les vaccinations, nous pouvons conclure que les injections intraveineuses sont plus efficaces que les injections sous-cutanées et intrapéritonéales.

Ceci étant démontré par rapport aux lapins, j'ai voulu voir l'effet immunisant des injections intravasculaires sur les chiens.

TABLEAU III

ESSAIS D'IMMUNISATION DES LAPINS, AU MOYEN D'INJECTIONS INTRAVEINEUSES SUIVIES D'INFECTION INTRACRANIENNE PAR LE VIRUS DES RUES (A L'EXCEPTION DES 2 PREMIÈRES EXPÉRIENCES OU L'INFECTION A PRÉCÉDÉ LES INJECTIONS).

Nos des animaux en expérience (lapins).	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉS d'émuls. inject. (filtr. et diluée du virus fixe).	MODE d'infection.	DÉLAIS entre les injections et l'infection.	RÉSULTATS obtenus.	
1	1	0 c. c. 8	Inoculation intracranienne du virus rabique des rues.	Injection faite 1 heure après l'infection.	Mort. Période d'incubation de 15 jours.	Lelapin de contrôle est mort après la période d'incub. de 18 j.
2	2	Par 1 c. c.	Idem.	Injections faites 1 heure et 24 heures après l'infect.	Mort. Période d'incubation de 17 jours.	Idem.
3	1	5 c. c.	—	Injection 12 jours avant l'infection.	Résiste à la rage.	Le cobaye de contrôle contracte la rage furieuse 9 jours après l'infection.
4	1	0 c. c. 5	—	Injection 16 jours avant l'infection.	Mort. Période d'incubation de 16 jours.	
5	2	1 c. c. et 0 c. c. 5	—	Injections faites 16 et 7 j. avant l'infect.	Mort. Période d'incub. de 16 j.	
6	1	1 c. c.	—	Injection 16 jours avant l'infection.	Mort. Période d'incub. de 16 j.	
7	2	Par 1 c. c.	—	Injections faites 21 et 10 j. avant l'infect.	Résiste à la rage.	
8	1	3 c. c.	—	Injection 15 jours avant l'infection.	Mort. Période d'incub. de 15 j.	
9	2	Par 3 c. c.	—	Injections faites 12 et 4 j. avant l'infection.	Résiste à la rage.	Lelapin de contrôle succombe après la période d'incub. de 15 j.
10	1	5 c. c.	—	Injection 10 jours avant l'infection.	Idem.	Idem.
11	2	2 c. c. et 1 c. c.	—	Injections faites 10 et 3 j. avant l'infect.	—	—

Dans ce but j'ai vacciné 3 chiens. Le premier a reçu 3 injections intraveineuses de 8 c. c., 5 c. c. et 10 c. c. d'émulsion filtrée et diluée du virus fixe; le second, 2 injections de 10 c. c. et de 6 c. c.; le troisième aussi 2 injections de 10 c. c.; ces vaccinations ont été faites dans le délai de 7-9 jours. Le premier a été conservé sans être éprouvé, afin de s'assurer de l'innocuité des injections intravasculaires. Aux deux autres, 16 et 23 jours après la première vaccination, on a inoculé, dans la chambre antérieure de l'œil, du virus rabique des rues. Tous les trois résistèrent à la rage; tandis que le lapin de contrôle, inoculé en même temps et de la même manière, finit par prendre la rage. (Tableau VI.)

Par les expériences que je viens de rapporter, j'ai cru avoir démontré l'innocuité et l'efficacité, au point de vue de l'immunisation antirabique, des injections intravasculaires de l'émulsion du virus fixe, filtrée et diluée, tant par rapport aux lapins que par rapport aux chiens.

Dans ces expériences, j'ai cherché à montrer l'action préventive des injections faites avant l'infection intracrânienne ou intraoculaire.

Dans les recherches consécutives, c'est l'effet curatif des injections intraveineuses que j'ai tenu à élucider et je suis arrivé aux résultats suivants :

Vingt lapins sont inoculés sous la dure-mère avec du virus rabique des rues. Le même jour, ou bien le jour suivant, on leur fait une injection intraveineuse de l'émulsion filtrée et diluée du virus fixe; on a répété ces injections pendant 3 à 6 jours en leur introduisant en tout 37 c. c. d'émulsion au maximum. L'émulsion qui a servi pour l'infection intracrânienne était virulente, quoique considérablement diluée; les lapins de contrôle non injectés, de même que les lapins de contrôle injectés dans le tissu sous-cutané, succombèrent tous en même temps à la rage. Tandis que sur 20 lapins traités par les injections intraveineuses, 4 résistèrent. (Tableaux VII, VIII, IX.)

Ce rapport de 4 sauvés sur 20 infectés est sûrement peu considérable; néanmoins il est encourageant vu l'impossibilité absolue, admise jusqu'à présent, de sauver les lapins inoculés de virus rabique sous la dure-mère.

TABLEAU IV

ESSAIS D'IMMUNISATION DES LAPINS, AU MOYEN D'INJECTIONS SOUS-CUTANÉES
ET INTRAPÉRITONÉALES, SUIVIES D'INFECTION INTRACRANIENNE PAR LE
VIRUS FIXE OU LE VIRUS DES RUES.

Ordre des animaux en expérience (lapins).	NOMBRE d'injections.	MODE D'INJECTION Quantité et qualité d'émulsion injectée.	MODE d'infection.	DÉLAIS entre l'injection et l'infection.	RÉSULTATS obtenus.
1	4	5 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe injectés dans le péritoine.	Inoculation intracranienne de l'émulsion diluée du virus fixe.	Inj. 7 jours avant l'infec- tion.	Résiste à la rage.
2	1	Idem.	Idem.	Inj. 10 jours avant l'infec- tion.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de con- trôle.
3	2	Par 5 c. c. d'émul- sion épaisse du virus fixe injectés dans le péritoine.	—	Inject. faites 17 et 9 jours avant l'infec- tion.	Résiste à la rage.
4	4	8 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe dans le péri- toine.	—	Inj. 14 jours avant l'infec- tion.	Idem.
5	2	Par 5 c. c. d'émul- sion épaisse du virus fixe en injec- tions sous-cuta- nées.	—	Inject. faites 24 et 16 jours avant l'infec- tion.	—
6	2	Par 10 c. c. d'é- mulsion épaisse du virus fixe en in- jections sous-cuta- nées.	—	Inject. faites 17 et 9 jours avant l'infec- tion.	—
7	2	Par 5 c. c. d'émul- sion épaisse du vi- rus fixe en injec- tions sous-cuta- nées.	Inoculation intracranienne du virus rabi- que des rues.	Inject. faites 12 et 4 jours avant l'infec- tion.	—
8	2	Par 5 c. c. d'émul- sion épaisse du virus fixe en injec- tions sous-cuta- nées.	Inoculation intracranienne d'émulsion di- luée du virus fixe.	Inject. faites 7 et 4 jours avant l'infec- tion.	Prend la rage et meurt en même temps que les la- pins de contrôle.

TABLEAU IV (Suite).

N ^o des animaux en expérience (lapins).	NOMBRE d'injections.	MODE D'INJECTION Quantité et qualité d'émulsion injectée.	MODE d'infection	DÉLAI entre l'injection et l'infection.	RÉSULTATS obtenus.
9	2	Par 5 c. c. d'émulsion filtrée et diluée du virus fixe en injections sous-cutanées,	Inoculation intracrânienne d'émulsion diluée du virus fixe.	Inject. faites 14 et 11 jours avant l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de contrôle.
10	2	Par 5 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injections sous-cutanées.	Idem.	Inject. faites 15 et 9 jours avant l'infection.	Résiste à la rage.
11	3	Par 5 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injections sous-cutanées. (Grand abcès purulent au point d'injection.)	—	Inj. faites 25, 16 et 8 jours avant l'infection.	Idem.
12	1	10 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injection sous-cutanée.	—	Inj. 14 jours avant l'infection.	Résiste à la rage. La veille de l'inoculation intracrânienne parésie des membres postérieurs, ensuite paralysie, qui dure 21 jours.
13	2	Par 5 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injections sous-cutanées.	N'a pas été inoculé sous la dure-mère, car le 6 ^e jour après la première injection, et le 2 ^e après la seconde, contracta la rage et mourut.		
14	2	5 c. c. et 3 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injections sous-cutanées.	Inoculation intracrânienne du virus fixe.	Inject. faites 14 et 6 jours avant l'infection.	Prend la rage et meurt en même temps que les lapins de contrôle (lapins de pass.).
15	3	1 c. c. d'émulsion filtrée et diluée du virus fixe en injection intraveineuse et 2 fois par 3 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe en injections sous-cutanées.	Idem.	Inj. faites 16, 14 et 11 jours avant l'infection.	Idem.

TABLEAU VII

ESSAIS DE TRAITEMENT, AU MOYEN D'INJECTIONS INTRAVEINEUSES, SUR DES LAPINS INFECTÉS SOUS LA DURE-MÈRE AVEC UNE ÉMULSION ASSEZ ÉPAISSE DE VIRUS RABIQUE DES RUES.

Nos des animaux en expérience.	DATE et mode d'injection.	DATE ET MODE de traitement.	QUANTITÉ d'émulsion injectée.	NOMBRE d'injections.	RÉSULTATS
1	14/vi. Inoculation intracranienne d'émulsion assez épaisse du virus rabique des rues.	14/vi. 5 c. c. d'émulsion filtrée et diluée en injection intraveineuse. — 15/vi. Idem. — 20/vi. Idem. — 24/vi. Idem.	20 c. c.	4	Prend la rage le 27/vi. Paralytie et mort le 28/vi.
2	Idem.	14/vi. 3 c. c. d'émulsion filtrée et un peu plus épaisse du virus fixe en injection intraveineuse. — 15/vi. Idem. — 17/vi. 5 c. c. d'émulsion diluée du virus fixe. — 20/vi. 4 c. c. d'émuls. un peu plus épaisse du virus fixe. — 24/vi. 3 c. c. de la même émulsion.	18 c. c. d'émulsion un peu plus épaisse du virus fixe.	4	Prend la rage le 27/vi. Suc-combe le 29/vi.
3	—	14/vi. 2 c. c. d'émulsion filtrée et un peu plus épaisse du virus fixe en injection intraveineuse. — 15/vi. idem. — Le 21/vi et le 26/vi par 5 c. c. d'émulsion du cerveau d'un lapin immunisé en injections sous-cutanées.	4 c. c. d'émulsion un peu plus épaisse du virus fixe et 10 c. c. d'ém. du cerveau d'un lapin immunisé.	4	Prend la rage le 28/vi. Suc-combe le 29/vi.
4	—	A partir du 14/vi, pendant 12 jours, 15 injections sous-cutanées d'émulsion de cerveaux desséchés (4 séries) par 2 c. c. de chaque injection.	30 c. c. d'émulsion épaisse de cerveaux desséchés.	15	Prend la rage le 26/vi. Suc-combe le 28/vi.
5	—	Lapin de contrôle non traité.			Prend la rage le 28/vi.

TABLEAU VIII

ESSAIS DE TRAITEMENT SUR DES LAPINS APRÈS L'INFECTION PRÉALABLE
PAR L'ÉMULSION ASSEZ ÉPAISSE DU VIRUS DES RUES

N ^o s des animaux en expérience.	MODE d'infection.	MODE de traitement.	DÉLAIS entre le moment d'infection et la 1 ^{re} injection.	DURÉE du traitement.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉ d'émulsion injectée.	RÉSULTATS
1	Inoculation intracranienne d'émulsion non filtrée du virus rabique des rues.	Inject. intraveineuses d'émulsion filtrée du virus fixe.	24 heures.	10 jours.	4	20 c. c.	Tous les lapins prennent la rage en même temps que les lapins de contrôle.
2	Idem.	Idem.	Idem.	Idem.	5	Idem.	
3	Inoculation intracranienne d'émulsion filtrée (assez épaisse) du virus rabique des rues.	—	L'injection est faite le même jour, après l'infection.	2 jours.	3	16 c. c.	
4	Idem.	—	Idem.	Idem.	Idem.	18 c. c.	
5	—	—	—	—	—	27 c. c.	
6	—	—	—	3 jours.	4	25 c. c.	
7	—	—	—	Idem.	Idem.	30 c. c.	
8	—	—	—	—	5	39 c. c.	
9	—	Inject. intraveineuses d'émulsion filtrée du virus fixe, plus injection sous-cutanée d'émulsion épaisse du virus fixe.	—	—	3	46 c. c. d'émulsion filtrée plus 5 c. c. d'émulsion épaisse.	
10	—	Injections sous-cutanées d'après la méthode pastoriennne.	—	10 jours.	19	45 c. c. d'émulsion épaisse.	

TABLEAU IX

ESSAIS DE TRAITEMENT SUR DES LAPINS APRÈS L'INFECTION PRÉALABLE
PAR L'ÉMULSION FILTRÉE ET DILUÉE DU VIRUS DES RUES.

N ^o des animaux expérimentés.	MODE d'infection.	MODE de traitement.	DÉLAIS entre le moment d'infection et la 1 ^{re} injection.	DURÉE du traitement.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉ d'émulsion injectée.	RÉSULTATS
1	Inocul. in- tracranienne d'émuls. fil- trée et très di- luée du virus rabique des rues.	Injections intraveineu- ses d'émul- sion filtrée du virus fixe.	L'injection est faite le même jour, après l'infec- tion.	2 jours.	3	15 c. c.	Résiste à l'infection.
2	Idem.	Idem.	Idem.	Idem.	4	35 c. c.	Idem.
3	—	—	—	—	6	20 c. c.	—
4	—	N'a pas été traité (lapin de contrôle).					Prend la rage après la période d'incuba- tion de 16 j.
5	Inocul. in- tracranienne d'émulsion fil- trée et diluée du virus rabi- que des rues.	Injections intraveineu- ses d'émul- sion filtrée du virus fixe.	L'injection est faite le même jour, après l'infec- tion.	2 jours.	5	37 c. c. d'émul- sion fil- trée et diluée.	Résiste à la rage.
6	Idem.	Idem.	Idem.	Idem.	4	17 c. c. d'émul- sion fil- trée et diluée.	Prend la rage après la période d'incuba- tion de 26 j.
7	—	Injections sous-cuta- nées d'émul- sion épaisse du virus fixe.	—	—	3	34 c. c. d'émul- sion épaisse.	Prend la rage après la période d'incuba- tion de 13 j.
8	—	N'a pas été traité (lapin de contrôle).					Idem.

On obtient les mêmes résultats sur les chiens. De quatre chiens inoculés dans la profondeur des muscles du membre postérieur, avec l'émulsion du cerveau d'un chien enragé, et traités ensuite par 2 injections intraveineuses, de 10 c. c. chacune, d'émulsion diluée du virus fixe, un seul prend la rage; les chiens de contrôle sont devenus enragés. (Tableau VI.)

INJECTIONS INTRAVASCULAIRES DE VIRUS RABIQUE. 411

TABLEAU VI

ESSAIS D'IMMUNISATION PRÉVENTIVE SUR DES CHIENS.
ET TRAITEMENT (CONSÉCUTIF A L'INFECTION) AU MOYEN D'INJECTIONS
INTRAVEINEUSES.

Nos des animaux en expérience	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉ et qualité de l'émulsion, mode d'injection.	MODE d'infection.	DÉLAIS entre les injections et l'infection.	RÉSULTATS obtenus.
1	3	23 c. c. d'émulsion filtrée du virus fixe en injections intraveineuses: la première fois, 8 c. c.; 7 j. après, 5 c. c.; 11 j. après la 2 ^e injection, 10 c. c.	Le chien n'a pas été infecté dans le but de s'assurer de l'innocuité des injections intraveineuses.		Cinq mois sont écoulés; se trouve en ce moment en bonne santé.
2	2	40 c. c. et 6 c. c. d'émulsion filtrée en injections intraveineuses.	Inoculation intracrânienne d'ém. du virus rabique des rues (cerveau).	Injections faites 16 et 6 jours avant l'infection.	Reste en bonne santé. Le lapin de contrôle succombe à la rage.
3	2	Par 10 c. c. d'émulsion filtrée du virus fixe en injections intraveineuses.	Inoculation intraoculaire d'émuls. du virus rabique des rues (cerveau).	Injections faites 23 et 14 jours avant l'infection.	Idem.
4	2	Par 10 c. c. d'émulsion filtrée du virus fixe en injections intraveineuses.	5 injections dans la profondeur des muscles du membre postérieur de l'émulsion du virus rabique des rues.	Injections faites 1 et 8 jours après l'infection.	Prend la rage paralytique 46 j. après l'infec., succombe 4 j. après. Le lapin de contrôle inoculé sous la dure-mère prend la rage après une période d'inoculat. de 15 j., succombe 4 j. apr.
5	2	10 et 8 c. c. d'émulsion filtrée du virus fixe en injections intraveineuses.	Idem.	Injections faites 3 et 10 j. après l'infection.	Résiste à l'infection.
6	15	40 c. c. d'émulsion épaisse du virus fixe injectés en 4 séries (en suivant la méthode ordinaire et en commençant par le cerveau desséché de 7 j.) en inject. sous-cutanées.	—	La 1 ^{re} injection est faite le 1 ^{er} j. après l'infection. On poursuit les inject. pendant 15 j.	Idem.
7		Ce chien a été infecté comme les chiens nos 4, 5 et 6, pour servir de contrôle; il n'a pas reçu d'injections intraveineuses. Le 23 ^e jour après l'infection il prend la rage et succombe 3 jours après. Le lapin de contrôle inoculé avec la même émulsion sous la dure-mère prend la rage après une période d'incubation de 10 jours et succombe 5 jours après.			

Un second lot de 4 chiens est inoculé avec du virus des rues, de la même façon, et traité, 2-3 jours après l'infection avec l'émulsion filtrée de virus fixe; le premier a reçu en 2 injections intraveineuses 36 c. c., le second 43 c. c., en 2 fois, le troisième 80 c. c. en 4 injections. Tous trois résistent. Tandis qu'un quatrième chien de contrôle, traité par les injections sous-cutanées, prend la rage après la période d'incubation de 23 jours. (Tableau X.)

TABLEAU X

ESSAIS DE TRAITEMENT SUR DES CHIENS APRÈS INFECTION INTRAMUSCULAIRE
PAR L'ÉMULSION DU VIRUS DES RUES

Nos des animaux en expérience.	MODE d'infection.	MODE de traitement.	DÉLAIS entre le moment d'infection et la 4 ^{re} injection.	DURÉE du traitement.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉ d'émulsion injectée.	RÉSULTATS
1	Injectations intramusculaires d'émulsion épaisse du virus rabique des rues faites en trois points dans l'épaisseur des muscles des membres postérieurs.	Injectations sous-cutanées d'après la méthode pastoriennne.	L'injection est faite le même jour après l'infection.	18 jours	22	100 c.c. d'émulsion épaisse.	Prend la rage après la période d'incubation de 22 j.
2	Idem.	Injectations intraveineuses d'émulsion filtrée et diluée.	Idem.	1 jour	2	36 c.c. d'émulsion filtrée et diluée.	Résiste à la rage.
3	—	Idem.	—	2 jours	2	43 c. c.	Idem.
4	—	—	—	4 jours	4	80 c. c.	—

Dans la troisième série, les chiens sont infectés sous la dure-mère; 4 avec l'émulsion épaisse, 4 autres l'émulsion toujours virulente, mais filtrée et diluée.

Les premiers, traités ensuite au moyen de 3 à 5 injections dans la veine, reçoivent 26 à 80 c. c. en tout, d'émulsion filtrée du virus fixe; ils succombèrent comme les chiens de contrôle traités au moyen d'injections sous-cutanées (Tableau XI).

TABLEAU XI

ESSAIS DE TRAITEMENT SUR DES CHIENS APRÈS INFECTION PRÉALABLE PAR
L'INOCULATION INTRACRANIEUNE D'ÉMULSION ASSEZ ÉPAISSE.

Nos des animaux en expérience.	MODE d'infection.	MODE de traitement.	DÉLAIS entre le moment d'infection et la 1 ^{re} injection.	DURÉE du traitement	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉS d'émulsion injectée.	RÉSULTATS
1	Inoculation intracranienne d'émulsion filtrée et diluée (dans la proportion de 4 p. 450) du virus rabique des rues.	Injections intraveineuses d'émulsion filtrée du virus fixe.	L'injection est faite le même jour après l'infection.	2 jours.	3	26 c.c. d'émulsion filtrée, du virus fixe.	Tous les chiens prennent la rage presque en même temps que les chiens de contrôle.
2	Idem.	Idem.	Idem.	Idem.	Idem.	40 c.c.	
3	—	—	—	—	—	56 c.c.	
4	—	—	—	3 jours.	5	80 c.c.	
5	—	Injections sous-cutanées d'après la méthode pastoriennne : 5 séries.	—	14 jours.	20	160 c.c.	

Les 4 autres, qui ont été inoculés sous la dure-mère avec l'émulsion diluée, ont reçu ensuite en 4 à 5 injections intraveineuses 50 à 95 c.c. d'émulsion filtrée et diluée du virus fixe; 3 d'entre eux restent jusqu'à présent en surveillance et en bonne santé; le quatrième est mort deux mois après l'infection sans manifester de symptômes suspects. Donc, l'effet curatif des injections intraveineuses se manifeste sur les chiens aussi bien que sur lapins (Tableaux XII).

A la fin de mes recherches, j'ai tenu à vérifier la possibilité d'arriver à l'immunité antirabique, en se servant du virus rabique (cerveau d'animal enragé) rendu non virulent par un agent atténuant quelconque, la dessiccation par exemple, le chauffage au bain-marie, la conservation dans l'alcool, etc., thèse posée par MM. Protopopoff et Babès. J'ai opéré sur 8 lapins en introduisant en 2 et 3 fois une émulsion non virulente, puisqu'elle était sans effet quand on l'inoculait sous la dure-mère,

TABLEAU XII

ESSAIS DE TRAITEMENT SUR DES CHIENS APRÈS INFECTION INTRACRANIENNE
PRÉALABLE PAR L'ÉMULSION FILTRÉE ET DILUÉE DU VIRUS DES RUES

Nos des animaux en expérience.	MODE d'infection.	MODE de traitement.	DÉLAI entre le moment d'infection et la 1 ^{re} injection.	DURÉE du traitement.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉS d'émulsion injectée.	RÉSULTATS
1	Inoculat. intracranienne d'émulsion filtrée et diluée du virus rabique des rues.	Une injection intraveineuse suivie d'injection sous-cutanées, d'ap. la méthode pastorienne.	L'injection est faite le même jour après l'infection.	13 j.	4 inject. intraveineuse + 19 inject. sous-cutanées.	20 c. c. d'émuls. filtrée et diluée + 95 c. c. d'émulsion épaisse.	Reste sain pendant 2 mois, s'enfuit ensuite.
2	Idem.	Inj. intraveineuses.	Idem.	3	4	50 c. c.	Résiste à la rage.
3	—	Idem.	—	2	Idem.	56 c. c.	Idem.
4	—	—	—	3	5 inj.	95 c. c.	—
5	—	N'a pas été traité (chien de contrôle). — Prend la rage après 8 jours et succombe en présentant les symptômes de la rage paralytique.					

des lapins. Les uns ont reçu en tout 12 c. c. d'émulsion filtrée et diluée dans les veines, les autres 20 c. c. d'émulsion épaisse dans le péritoine ; 14-18 jours après je les ai inoculés sous la dure-mère avec du virus fixe ou bien du virus rabique des rues. Tous ont pris la rage en même temps que les lapins de contrôle. (Tableau V.)

La quantité de lapins sur lesquels j'ai fait cette expérience n'est pas grande, il est vrai, mais l'identité des résultats obtenus sur tous les huit permet — il me semble — de nier la possibilité d'immunisation au moyen de la matière nerveuse d'animal enragé dont la virulence a été détruite.

Je crois pouvoir mentionner en cette place une des observations faites pendant mes recherches actuelles, encore inachevées, sur le sérum antirabique, cette observation servant — de même que l'expérience citée tout à l'heure — d'argument contre le pouvoir immunisant du virus rabique dont la virulence a été

TABLEAU V

ESSAIS D'IMMUNISATION DES LAPINS, AVEC L'ÉMULSION DU VIRUS RABIQUE
RENDU NON VIRULENT, SUIVIE D'INFECTION INTRACRANIENNE PAR LE
VIRUS RABIQUE FIXÉ OU LE VIRUS DES RUES.

Nos des animaux en expérience.	NOMBRE d'injections.	QUANTITÉ et qualité d'émulsion injectée. Mode d'injection.	MODE d'infection.	DÉLAIS entre les injections et l'infection.	RÉSULTATS obtenus.
1	1	1 c. c. d'émulsion filtrée du cer- veau non virulent (soumis à la dessiccation de 8 jours) en inec- tion intraveineuse.	Inoculation intracranienn d'émulsion du virus fixe.	Injection faite 8 jours avant l'in- fection.	Tous les lapins prennent la rage et succombent en même temps que les lapins de contrôle.
2	1	Idem.	Idem.	Injection faite 16 j. avant l'in- fection.	
3	2 fois	Par 1 c. c. d'émulsion filtrée du cerveau non virulent (soumis à la dessiccation de 8 jours) en inec- tions intraveineuses.	—	Injec- tions faites 18 et 12 j. avant l'in- fection.	
4	2 fois	Par 5 c. c. d'émulsion filtrée du cerveau non virulent (soumis à la dessiccation de 8 jours) en inec- tions intraveineuses.	Inoculation intracranienn du virus rabi- que des rues.	Injec- tions faites 16 et 6 jours avant l'in- fection.	
5	2 fois	Par 5 c. c. d'émulsion épaisse du cerveau non virulent (soumis à la dessiccation de 8 jours) en inec- tions intrapéritonéales.	Inoculation intracranienn d'émulsion fil- trée et diluée du virus fixe.	Injec- tions faites 16 et 7 j. avant l'in- fection.	
6	2 fois	Par 10 c. c. d'émulsion épaisse du cerveau de lapin de passage conservé dans l'alcool jusqu'à la perte de virulence (9 et 7 jours) en injections intrapéritonéales.	Idem.	Injec- tions faites 17 et 7 j. avant l'in- fection.	
7	2 fois	7 et 5 c. c. d'émulsion filtrée et diluée du cerveau de lapin de pas- sage conservé dans l'alcool jus- qu'à la perte de virulence (9 et 7 jours) en injections intravei- neuses.	—	Injec- tions faites 14 et 5 j. avant l'in- fection.	
8	2 fois	3 c. c. 5 et 5 c. c. d'émulsion filtrée et diluée du virus fixe rendu non virulent (plongé pendant 7-10 minutes dans de l'eau bouillante) en injections intraveineuses.	—	Injec- tions faites 16 et 6 j. avant l'in- fection.	

atténuée jusqu'à devenir nulle. J'ai à ma disposition un sérum qui présente nettement le pouvoir bactéricide spécifique; son action sur la virulence de la matière nerveuse rabique est de même ordre que celle de la dessiccation, du chauffage, ou encore de l'action de l'alcool, etc. En effet, si on inocule un lapin sous la dure-mère avec un mélange d'émulsion filtrée du virus fixe et de sérum, l'effet de l'inoculation est nul, le lapin ne prend pas la rage.

C'est ce mélange neutre que j'ai injecté à 2 lapins, dans la veine, en 2 à 3 fois par 3 à 4 c. c.; 15 jours après la première injection, les lapins ont été inoculés sous la dure-mère avec du virus fixe; tous succombèrent à la rage en même temps que les lapins de contrôle. Donc, la matière rabique non virulente n'exerce aucune action immunisante.

Qu'il me soit permis d'ajouter que l'émulsion employée, dans l'expérience précédente, en mélange avec le sérum antirabique, injectée seule ou mélangée au sérum antidiphtérique a manifesté son pouvoir immunisant; car tous les lapins inoculés ensuite sous la dure-mère avec du virus fixe résistèrent à la rage. Cette expérience démontre aussi que le sérum anti-diphtérique n'a aucune action et que seul le sérum antirabique est capable de modifier le virus rabique.

En résumé toutes les expériences citées nous conduisent aux conclusions suivantes :

1) Les injections intraveineuses du virus rabique ne sont pas dangereuses, à la condition que le virus soit en émulsion filtrée et diluée, que l'émulsion soit chauffée à 37° et qu'elle soit poussée d'un mouvement lent¹.

2) Par les injections intraveineuses on rend plus rapidement les animaux réfractaires à la rage et on obtient une immunité plus solide qu'avec les autres modes de vaccination; ces injections faites au lapin (l'animal le plus sensible à la rage), même après l'inoculation intracrânienne du virus rabique (infection toujours mortelle), arrivent quelquefois à le préserver de la maladie.

1. Si ces conditions sont remplies, si par conséquent on exclut la possibilité de la formation des embolies, les injections sont toujours inoffensives. Pendant toutes mes recherches, sur un nombre très considérable de lapins en expérience, un seul a succombé à la suite de l'injection intraveineuse.

3) La matière nerveuse rabique, rendue non virulente par un agent atténuant quelconque, n'a pas d'action immunisante; tout au plus, elle exerce peut-être un pouvoir vaccinant, en faisant l'organisme moins sensible à l'introduction consécutive du virus renforcé.

Étant donnée la grande importance qu'il y a à développer rapidement une immunité renforcée chez les personnes mordues par des animaux enragés, surtout dans les cas de morsures graves; étant données d'autre part non seulement l'innocuité mais aussi l'efficacité des injections intraveineuses de virus finement émulsionné, mon maître, M. le professeur Wysokowicz a fait — il y a un an — dans des cas d'une gravité excessive les premiers essais d'injections intraveineuses du virus fixe sur les mordus traités à l'Institut Bactériologique de Kief.

Jusqu'à ce moment il y a eu 70 personnes mordues traitées par des injections intraveineuses du virus fixe. Ces injections ont donné en somme des résultats encourageants.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au professeur Wisokowicz pour les conseils qu'il m'a donnés et pour la part personnelle qu'il a prise aux expériences de ce travail.

LITTÉRATURE

HÖGYES, *Die Lyssa*, monographie, 1890.

PASTEUR, *Comptes rendus*, 1882, t. XCV. Nouveaux faits pour servir à la connaissance de la rage.

GALTIER, *Comptes rendus* 1881, t. XCIII. Les injections de virus rabique dans le torrent circulatoire.

GALTIER, *Comptes rendus* 1888, t. CVI. Nouvelles expériences sur l'inoculation antirabique en vue de préserver des animaux herbivores.

ROUX et NOCARD, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888, n° 17. Expériences sur la vaccination des ruminants contre la rage, par injections intraveineuses de virus rabique.

PROTOPOPOFF, *Les injections préventives antirabiques* (en langue russe), 1888, Charkow.

PASTEUR, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, n° 1.

MONCET, *Revue vétérinaire*, 1898, n° 5.

KRAIOUSCHKINE, *Archives des sciences biologiques St-Petersburg*, t. III. Action du virus fixe en injections sous-cutanées.

ACTION DE LA CHALEUR SÈCHE SUR LES SPORES ET LA TOXINE TÉTANIQUE

PAR MM. V. MORAX ET A. MARIE

(Travail du laboratoire de M. Roux.)

On a depuis longtemps remarqué que la chaleur agit de la même façon sur les diastases et sur les toxines microbiennes en solution. On sait, par exemple, qu'une température de 58°, maintenue pendant 2 heures, détruit presque complètement l'activité de la toxine diphtérique. De même, un chauffage à 80°, pendant 30 minutes, rend la toxine tétanique inoffensive.

En ce qui concerne les enzymes, on a constaté que d'une manière générale elles perdent définitivement leur action diastatique à des températures variant entre 55 et 80°, suivant la réaction et la nature du milieu dans lequel elles sont contenues : ainsi l'amylase, qui à 65° éprouve en quelques minutes un affaiblissement sensible, est complètement détruite après une assez courte exposition à 75-76°.

Il en va tout autrement si, au lieu d'agir sur les diastases en solution, la chaleur exerce son action sur ces mêmes substances desséchées. M. Hufner¹, le premier, a montré que de la trypsine pancréatique desséchée pouvait être chauffée à 100° sans perdre aucune de ses propriétés ; M. Salkowski² a établi ensuite qu'une température comprise entre 160 et 170° est nécessaire pour les annihiler.

Plus tard, la même observation fut faite pour d'autres diastases, telles que l'émulsine, la pepsine, la plasmase.

Il nous a paru intéressant d'entreprendre des recherches analogues sur les toxines desséchées, afin de voir si ces substances présenteraient la même résistance que les diastases aux températures élevées.

Nous avons choisi la toxine tétanique qu'il est facile d'obtenir à l'état sec et dont l'inoculation de doses infinitésimales suffit pour produire les réactions les plus nettes chez les petits animaux de laboratoire. En outre, nous pouvions comparer

1. HUFNER, *Jarbuch. für prakt. Chemie* N.S. T. XVIII et *Pflügers Archiv*. T. XL.

2. SALKOWSKI, *Virchow's Archiv*. T. LXX et LXXI.

l'action de la chaleur sur les spores tétaniques desséchées et sur la toxine sèche.

La toxine tétanique que nous avons employée a été préparée par précipitation au moyen du sulfate d'ammoniaque, de cultures en bouillon filtrées. Le précipité recueilli sur un filtre, desséché dans le vide et réduit en poudre est conservé dans un excicateur. Il va sans dire que la toxine obtenue de cette façon n'est rien moins qu'un produit pur, mais qu'il s'agit d'un mélange complexe dans la composition duquel entrent les albumoses du milieu de culture, une petite quantité de sels¹, et des produits microbiens, parmi lesquels la toxine tétanique.

La proportion d'eau qui persiste est excessivement faible, ainsi que le prouve l'expérience suivante :

Un décigramme de toxine tétanique est soumis pendant 10 minutes à 138°; une nouvelle pesée montre qu'il a perdu 0,0045, soit 4,5 0/0 de son poids primitif.

Nous avons expérimenté avec plusieurs échantillons différents de toxine tétanique : on trouvera plus loin le résumé de nos expériences. Ces toxines ont été soumises à des températures comprises entre 120 et 139°.

Nous avons d'abord utilisé, pour ce chauffage, le four à air chaud, mais nous lui avons préféré, par la suite, le bain de paraffine.

De petites tubes de verre contenant 0,1 décigramme de toxine sont plongés, ainsi qu'un thermomètre, dans un tube de verre renfermant de la paraffine et baignant lui-même dans une capsule de porcelaine remplie de cette substance. Un thermostat placé dans le bain extérieur maintient la température voulue pendant la durée du chauffage.

Les nombreuses expériences que nous avons faites nous permettent de dire que la toxine tétanique, de même que les diastases, supporte à l'état sec des températures beaucoup plus élevées qu'à l'état liquide.

Une toxine tétanique chauffée 15 minutes à 120° présente le même degré d'activité qu'avant le chauffage; la même dose minima peut tuer une souris, mais avec un retard de 3 jours.

1. Nous avons expérimenté aussi la toxine obtenue par dessiccation immédiate de cultures en bouillon filtrées; la quantité de NaCl est telle que la poudre est très hygroscopique et que dans le chauffage on ne peut négliger l'effet de la proportion d'eau contenue dans une telle toxine.

Un chauffage à 135° pendant 20 minutes ne paraît pas altérer la toxine d'une manière plus sensible que le chauffage à 120°. Exposée à des températures de 150, 152, 154°, la toxine tétanique conserve encore une activité relativement forte, à la condition que le chauffage n'excède pas 15 à 20 minutes de durée.

Voici quelques exemples : la toxine chauffée 20 minutes à 150° a tué la souris en 4 jours avec deux fois la dose mortelle ; par contre, 5 doses mortelles de tétanine chauffée à 154° pendant 3 minutes n'arrivent plus à tuer qu'en 9 jours une souris de poids moyen.

Il faut dépasser la température de 150°, et monter jusqu'à 159° pour anéantir l'activité d'un échantillon de toxine. Et même à cette température de 159°, les principes tétanigènes ne sont pas détruits en totalité, puisqu'une dose 100 fois mortelle d'une toxine portée pendant 20 minutes à 159° parvient encore à provoquer chez la souris un tétanos local.

Tels sont les résultats obtenus lorsque la température n'agit pas sur la toxine au delà de 15 à 20 minutes, car la durée du chauffage, plus que l'élévation thermique, semble exercer une influence sur la toxine.

La même température de 140°, presque indifférente quand elle n'agit pas au delà de 20 minutes, altère sensiblement la toxine, dès que le chauffage est prolongé pendant une heure. Il faut alors une dose 200 fois mortelle pour obtenir un tétanos local. Au bout de 3 heures, la même température a complètement détruit la toxine tétanique.

La prolongation du chauffage paraît être moins défavorable aux propriétés des enzymes qu'à celles des toxines, puisque M. Salkowski a montré que de la pepsine convenablement desséchée peut être soumise pendant 3 ou 4 heures à 160° sans présenter aucune différence avec la pepsine non chauffée.

Nous avons voulu rechercher quelles relations existent entre la température nécessaire pour la destruction de la toxine et celle qui supprime toute végétabilité des spores tétaniques ; en d'autres termes, il était intéressant de voir s'il y a corrélation entre la destruction de la toxine par la chaleur et la désorganisation de la matière vivante.

Les spores tétaniques provenaient des mêmes cultures qui nous avaient fourni notre toxine. Ces cultures étant préparées

à la faveur du *Bacillus subtilis*, suivant les indications de M. Debrand¹; il en résultait que les spores tétaniques se trouvaient mélangées à des spores de *subtilis*.

Ces spores étaient placées dans de petits tubes et chauffées au bain de paraffine dans les mêmes conditions que la toxine.

Pour éprouver leur vitalité, il était fait, chaque fois, des inoculations au cobaye et des cultures en bouillon. M. Vaillard² a démontré que les spores tétaniques, débarrassées de leur toxine et inoculées à l'état de pureté, sont incapables de germer dans l'organisme animal, mais que l'addition d'acide lactique ou bien de certains microbes permet la végétabilité de ces spores. Dans nos expériences, nous avons toujours inoculé des cobayes avec et sans acide lactique.

Voici les résultats que nous avons obtenus. Après un chauffage pendant 20 minutes à 152°, les spores de *B. subtilis* se sont développées au bout de 24 heures, alors que les spores tétaniques étaient détruites.

Une température de 155°, pendant 20 minutes, ne tue pas les spores du *subtilis*, mais bien celles du tétanos.

Il ressort de ces expériences que la chaleur sèche détruit plus rapidement la vitalité des spores tétaniques que l'activité de la toxine. Dans toutes nos expériences, nous voyons la toxine conserver une activité relative, après un chauffage à des températures qui détruisent définitivement la végétabilité des spores tétaniques, puisqu'il suffit d'un chauffage à sec à 140° pendant 1 heure pour que leur inoculation soit non seulement inoffensive pour un animal aussi sensible que le cobaye, mais encore pour qu'elles ne puissent se développer en présence du *B. subtilis*.

Il est intéressant de rapprocher de nos expériences les observations faites par M. L. Camus sur la résistance des sérums desséchés aux températures élevées. D'après lui, le sérum antidiphtérique et le sérum antivenimeux³ supportent un chauffage de 15 minutes à 140° et de 30 minutes à 110° sans perdre leurs propriétés.

1. DEBRAND, Ces *Annales* 1900, n° 11.

2. VAILLARD, Ces *Annales* 1892, n° 6.

3. Des expériences que nous n'avons pas poursuivies nous ont montré que le venin desséché (venins de cobra et de bothrops, de M. Calmette) conserve encore la moitié de son activité après un chauffage de 15 minutes à 152°, et qu'une température de 158° est nécessaire pour le rendre presque inoffensif. (Voir, plus loin, le résumé de ces recherches.)

RÉSUMÉ DES EXPÉRIENCES

I. ACTION DE LA CHALEUR SUR LA TOXINE TÉTANIQUE

1. 120° PENDANT 15 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0.002

49-II-02	20	21	22	23	24	25	26	27
Souris 0.002.....	O	O	—	=	≡	≡	≡	+
Souris 0.0015.....	O	—	—	—	—	=	=	=
Souris 0.002 T. T. non chauffée.	—	≡	≡	+				

2. 140° PENDANT 20 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0.002

5-III-02	6	7	8	9	10	11
Souris 0.002.....	O	O	O	—	=	+
Souris 0.004.....	O	—	=	+		
Souris 0.02.....	+					

3. 150° PENDANT 20 MINUTES

SOURIS DE 8 GRAMMES, DOSE MINIMA MORTELLE = 0.002

7-III-02	8	9	10	11
Souris 0.004.....	O	—	=	≡ +
Souris 0.02.....	O	—	≡ +	

4. 150° PENDANT 20 MINUTES.

SOURIS DE 15 GRAMMES. DOSE MINIMA MORTELLE = 0,002

10-III	11	12	13	14	15	16	17	18
Souris 0,004.....	0	0	—	=	=	=	≡	+
Souris 0,01.....	0	—	—	≡	+			

5. 152° PENDANT 20 MINUTES. — 156° PENDANT 1 MINUTE

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,0000005

3-IV	4	5	6	7	8	9
Souris 0,0001.....	0	0	0	0	0	0
Souris 0,00001.....	0	0	0	0	0	0
Souris 0,000001.....	0	0	0	0	0	0

6. 154° PENDANT 3 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,002.

10-III	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Souris 0,004..	0	0	—	—	—	—	—	—	—
Souris 0,01...	0	0	—	=	=	=	=	=	+

7. 158° PENDANT 15 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,001.

28-II	1-III	2	3	4	5	6	7
Souris 0,002....	0	0	0	0	0	0	0
Souris 0,004....	0	0	0	0	0	0	0

8. 158° PENDANT 10 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,004.

14-III	15	16	17	18	19	20	21
Souris 0,004.....	O	O	O	O	O	O	O
Souris 0,01.....	O	O	O	O	O	O	O
Souris 0,02.....	O	O	O	O	O	O	O

9. 159° PENDANT 20 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,00001

2-IV	3	4	5	6	7	8	9
Souris 0,001 100 doses mortelles	O	O	—	—	—	—	—
Souris 0,0001 ...	O	O	O	O	O	O	O

10. 155° PENDANT 20 MINUTES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,00001

2-IV	3	4	5	6	7	8	9
Souris 0,001 100 doses mortelles	O	O	—	—	—	—	—
Souris 0,0001...	O	O	O	O	O	O	O
Souris 0,00001 ..	O	O	O	O	O	O	O

11. 147° PENDANT 3 HEURES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0,0000005

5-IV	6	7	8	9	10	11
Souris 0,00001.....	O	O	O	O	O	O
Souris 0,000001.....	O	O	O	O	O	O

12. 140° PENDANT 3 HEURES

DOSE MINIMA MORTELLE = 0.0000005

8-IV	9	10	11	12
Souris 0.0001.....	0	0	0	0
Souris 0.001.....	0	0	0	0

13. 140° PENDANT 1 HEURE

DOSE MINIMA MORTELLE = 0.0000005

8-IV	9	10	11	21
Souris 0.0001.....	0	—	—	—
Souris 0.001.....	—	=	≡	≡

II. ACTION DE LA CHALEUR SUR LES SPORES DESSÉCHÉES DU B. SUBTILIS. ET DU B. TÉTANIQUE

1. 152° PENDANT 20 MINUTES

Cultures..... { B. Subtilis. — Développement.

{ B. tétanique. — Pas de développement.

Inoculation à 3 cob. Rien.

2. 153° PENDANT 20 MINUTES

Cultures..... { B. Subtilis. — Développement.

{ B. tétanique. — Pas de développement.

Inoculation à 4 cob. Rien.

3. 158° PENDANT 10 MINUTES

Cultures..... B. Subtilis. — Développement.

4. 158° PENDANT 15 MINUTES

Cultures..... { B. Subtilis... } Pas de développement.

{ B. tétanique. }

Inoculation à 3 cob. Rien.

5. 120° PENDANT 3 HEURES

Cultures..... { B. Subtilis..... } Développement.

{ B. tétanique..... }

Inoculation à 2 cob. Rien.

6. 147° PENDANT 3 HEURES

Cultures..... { B. Subtilis..... } Rien.

{ B. tétanique..... }

Inoculation à 2 cob. Rien.

7. 140° PENDANT 3 HEURES

Cultures..... } B. Subtilis..... } Rien.
 } B. tétanique..... }

8. 140° PENDANT 1 HEURE

Cultures..... } B. Subtilis..... } Rien.
 } B. tétanique..... }

III. ACTION DE LA CHALEUR SUR LE VENIN DESSECHÉ

ANIMAUX	POIDS	LIQUIDE inoculé.	MODE d'inoculat.	HEURE d'inoc.	HEURE de la mort.	19	20	21	22	23	24
Lapin 89.	1.570	0 c. c. 2 venin non chauffé.	Sous- cutanée.	11 ^h ,41	2 ^h ,15						
Lapin 31.	1.970	id.	Veineuse.	11 ^h ,40	12 ^h ,09						
Lapin 43	1.300	0 c. c. 2 ve- nin chauffé à 152°.	Sous- cutanée.	11 ^h ,46	5 ^h ,30						
Lapin 85.	1.850	id.	Veineuse.	11 ^h ,45	12 ^h ,35						
Lapin 21.	1.400	0 c. c. 2 ve- nin chauffé à 158°.	Sous- cutanée.	11 ^h ,49	0	0	+				
Lapin 24.	1.750	id.	Veineuse.	11 ^h ,48	0	0	0	0	0	0	+

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ DE CULTURE DU TÉTANOS

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

PAR LE D^r L. DEBRAND

(Travail du laboratoire de M. Roux.)

Dans une précédente publication ¹, j'ai démontré qu'il y a identité entre la toxine produite par la culture anaérobie du bacille de Nicolaïer et la toxine résultant de la culture, à l'air libre, du même bacille associé au *Bacillus subtilis*. Si les toxines sont identiques, ajoutais-je, le sérum fourni par les animaux immunisés avec l'une ou l'autre aura les mêmes propriétés. Le but de ce travail est de prouver qu'il en est ainsi.

La culture mixte, on se le rappelle, s'effectue par le simple mélange du bacille du tétanos et du *B. subtilis* dans un bouillon d'âge quelconque, contenu dans un récipient bouché par un tampon d'ouate. Est-il indispensable, de prendre chaque fois pour semence un bacille tétanique provenant directement d'une culture anaérobie? S'il en était ainsi, le nouveau procédé n'aurait guère d'avantage sur l'ancien. Il est facile de tourner cette difficulté.

On fait une culture mixte de tétanos ordinaire et de *B. subtilis*. Le jour où elle a atteint son maximum de toxicité (6^e jour) on la soumet à l'ébullition pendant 2 minutes. On tue ainsi les bacilles. On agite avec soin le récipient, afin de répartir les spores dans toute la masse liquide. On remplit alors un très grand nombre de pipettes qu'on ferme à la lampe. On peut ainsi faire une abondante provision de semences, que l'on tiendra en réserve à l'obscurité, à la température du laboratoire, voire même à la glacière. Vienne le moment de faire une culture mixte, on ouvre la pipette et l'on procède à l'ensemencement comme de coutume. On voit donc qu'il suffit d'entretenir à l'abri de l'air le bacille tétanique qui doit servir à ensemer les cultures.

1. Ces *Annales*, novembre 1900.

Le grand ennemi de ces cultures mixtes, c'est l'air qui exerce une influence délétère sur les spores elles-mêmes, si celles-ci sont conservées en milieu liquide et à l'air. Aussi, si les semences n'étaient pas mises à l'abri de l'air, elles deviendraient bientôt inactives. Le *B. subtilis* lui-même perd la propriété de faire pousser le tétanos au bout d'un certain temps, si on le laisse séjourner dans le bouillon des tubes aérobies où il a poussé, sans fermer le tube à la lampe : capuchonner est une précaution insuffisante. Pour conserver au *B. subtilis* toute son activité, il faut faire de temps en temps des passages sur gélose; il vaut même mieux le conserver sur gélose jusqu'au jour de l'ensemencement.

Cette action nocive de l'air nous explique aussi pourquoi un *Bacillus subtilis* qui résistait à 1 h. 20 d'ébullition, au moment où il a été isolé, supporte à peine pendant une 1/2 heure la température de 100°, lorsqu'il a été immergé pendant longtemps dans le bouillon de culture, soumis à l'action de l'air ambiant.

C'est avec la toxine ainsi préparée que j'ai fait les expériences dont il va être maintenant question. 1/200 de c. c. de cette toxine donnait un tétanos rapidement mortel aux cobayes, mais il va sans dire que cette dose ne représente pas la dose minima mortelle. Par mon procédé, j'obtiens une toxine aussi forte qu'avec le procédé classique. J'ai déjà indiqué, dans la première partie de ce travail, que j'avais doublé la toxicité de mon bacille par le procédé des sacs, mais en retirant le sac du péritoine d'autant plus tôt que la toxicité s'exaltait davantage; j'ai obtenu un microbe produisant une toxine qui tue un cobaye de 400 grammes en 3 jours avec 1/1200 de c. c. et la souris en 5 jours avec 1/6000. On peut même obtenir davantage, mais cela n'a pas d'importance dans la question qui nous occupe. Dans tous les cas, quel que soit le bacille employé, la toxicité des cultures anaérobies ordinaires sera la même que celle des cultures en symbiose des bacilles subtilis et tétanique.

C'est la toxine ainsi préparée qui m'a servi à immuniser les lapins. J'ai commencé par leur injecter un mélange de toxine et de liqueur de Gram, d'après le procédé de MM. Roux et Vailard¹. Le tableau ci-joint indique la marche de l'immunisation d'un lapin contre le tétanos.

1. Ces *Annales*, février 1893.

DATES	POIDS	TOXINE	POINTS D'INOCULATION	OBSERVATIONS
Décembre 20.	1980 gr.	Toxine... 2 c. c. Gram.... 1 c. c.	Peau du dos.	
— 24.	2000 —	Toxine .. 4 c. c. Gram.... 4 c. c.	id.	
— 28.	2050 —	Toxine .. 8 c. c. Gram.... 4 c. c.	id.	
Janvier 1 ^{er} .	2050 —	Toxine... 10 c. c. Gram.... 2 c. c.	id.	
Janvier 8.	2050 gr.	Tox. pure. 5 c. c.	Peau du dos.	
— 14.	2035 —	id. 10 c. c.	id.	
— 21.	2170 —	id. 15 c. c.	id.	
Février 1 ^{er} .	2180 —	id. 20 c. c.	id.	
Février 11.	2212 gr.	Tox. pure. 30 c. c.	Péritoine.	
— 18.	2250 —	id. 40 c. c.	id.	
— 25.	2270 —	id. 50 c. c.	id.	
Mars. 5.	2360 —	id. 60 c. c.	Peau et Veine.	Veine marginale de l'oreille.
Mars 16.	2365 gr.	Tox. pure. 75 c. c.	Veine marg.	
— 26.	2450 —	id. 80 c. c.	Périt.-Veine.	
Avril 5	Je prends 40 c. c. de sang.
Juin. 20.	2520 gr.	Tox. pure. 35 c. c.	Péritoine.	Le 40 avril, l'animal prend cette maladie du lapin, désignée sous le nom vulgaire de « maladie du nez ».
Juillet 1 ^{er} .	2600 —	id. 40 c. c.	id.	Je lui fais des insufflations quotidiennes de sulfobore et je désinfecte avec une solution de sublimé à 1/1000 ses pattes antérieures. L'animal se rétablit peu à peu et, lorsqu'il a repris son embonpoint, je recommence les inoculations de toxine.
— 15.	2800 —	id. 50 c. c.	id.	
Août 1 ^{er} .	3200 —	id. 50 c. c.	id.	
— 15.	3320 —	id. 50 c. c.	id.	
Septembre 1 ^{er} .	3300 —	id. 60 c. c.	Peau.	
— 15.	3320 —	id. 60 c. c.	Péritoine.	
— 24.	3360 —	id. 80 c. c.	id.	
Octobre. 12.	3250 —	id. 100 c. c.	Périt. et Veine.	
— 28.	3300 —	id. 120 c. c.	id.	
Novembre.....	Je prends 40 c. c. de sang.
Décembre 3.	3280 —	Tox. pure. 100 c. c.	Périt. et Veine.	
— 13.	Je prends 40 c. c. de sang.

Le procédé exposé dans ce tableau diffère peu, on le voit, de celui qu'a indiqué M. Vaillard. Il permet d'opérer plus lentement, avantage appréciable lorsqu'on a affaire à des animaux malingres ou de petite taille. Grâce à cette gradation prudemment progressive des doses de toxine, aucun des 20 lapins que j'ai immunisés n'est mort du tétanos, une fois que la formule a été établie.

Cette formule est la suivante :

Partant de 2 grammes de toxine et de 1 gramme de liqueur de Gram, injecter sous la peau, tous les 4 jours, une dose double de la précédente, et cela 3 fois de suite; 4 jours plus tard, parfaire l'immunisation en inoculant à l'animal 40 grammes de toxine et 2 grammes de liqueur iodo-iodurée; 4 jours plus tard, donner 5 grammes de toxine pure. L'embonpoint de l'animal étant le critérium d'une immunisation bien supportée, on ne donne la toxine pure que quand celui-ci a recouvré et même dépassé son poids primitif. Pendant 4 semaines on augmente la dose de 5 grammes chaque fois, et pendant 4 autres semaines de 40 grammes. Lorsque le lapin supporte 60 grammes de toxine, on peut lui donner celle-ci *ad libitum*.

Quand on injecte plus de 20 c. c. il faut faire plusieurs piqûres ou recourir à la voie veineuse ou intra-péritonéale. Cependant, on doit éviter d'introduire plus de 100 c. c. de toxine, en une seule fois, dans la cavité péritonéale.

J'ai toujours fait usage d'une toxine ayant six jours d'étuve, c'est-à-dire provenant d'une culture où le bacille tétanique a poussé pendant 5 jours, les 24 premières heures étant nécessaires à la croissance du *B. subtilis*. Cette culture était filtrée sur la bougie Chamberland; sous faible pression; elle était passée sur un tamis avant d'être versée sur la bougie, pour retenir les débris du voile de *Bacillus subtilis*.

Le sérum des animaux immunisés comme nous venons de le dire, avec une toxine préparée au moyen des cultures mixtes de bacille tétanique et de *Bacillus subtilis*, est-il aussi antitoxique que celui obtenu avec la toxine des cultures tétaniques anaérobies? Les expériences suivantes répondent à la question; elles portent sur deux séries d'animaux : A. Animaux recevant le sérum avant la toxine; B. Animaux recevant la toxine avant le sérum.

A. *Le sérum est injecté avant la toxine.* — 1^{re} série. — Cobayes de 400 à 500 grammes, reçoivent 1 c. c. de sérum sous la peau du flanc droit, 10, 20, 30, 40, 60 minutes et 1 h. 1/2 avant l'injection de 1/200 de c. c. de toxine dans la patte gauche.

Le témoin (450 gr.) meurt en 48 heures.

Tous les animaux traités prennent un tétanos local dont ils guérissent.

2^e série. — Cobayes de 450 à 500 grammes, recevant sous la peau du flanc droit 3 c. c. de sérum, aux mêmes intervalles que ci-dessus, avant l'inoculation dans la patte gauche de 1/200 de c. c. de toxine.

Le témoin (400 gr.) meurt en 42 heures.

Les animaux ayant reçu la toxine moins d'une heure après le sérum, prennent un tétanos très léger, qui disparaît en 2 ou 3 jours.

3^e série. — Cobayes de 450 à 500 grammes inoculés aux mêmes intervalles que ci-dessus, avec cette différence qu'ils reçoivent le sérum dans le péritoine. Aucun animal ne prend le tétanos.

Donc aucun animal ne prend le tétanos, s'il reçoit le sérum avant la toxine, y eut-il une heure et demie d'intervalle entre les deux inoculations. Ces résultats sont donc en concordance parfaite avec ceux que donne le sérum actuellement en usage.

B. *Toxine avant sérum.* — 1^{re} série. — Cobayes de 350 à 450 grammes, recevant 1/200 de c. c. de toxine dans la patte gauche et 1 c. c. de sérum sous la peau du flanc droit un certain temps après : 25, 35, 40, 60 minutes, 1 h. 1/2, 2 h. 1/2, 3 heures, 6 heures, 12 et 14 heures.

Le témoin (500 gr.) meurt en 48 heures.

Tous les animaux prennent le tétanos (raideur de la patte, etc.) mais seuls survivent ceux qui ont reçu le sérum moins de 1 h. 1/2 après la toxine.

2^e série. — Cobayes de 400 à 500 grammes recevant 1/200 de c. c. dans la patte gauche, puis 3 c. c. de sérum sous la peau du flanc droit, aux mêmes intervalles que ci-dessus.

Le témoin (465 gr.) meurt en 52 heures.

Tous les cobayes qui ont reçu le sérum moins de 2 h. 1/2 après la toxine sont préservés, les autres meurent avec des retards de 1 à 5 jours.

3^e série. — Cobayes de 350 à 450 grammes ayant reçu 1/200 de c. c. de toxine à la patte gauche et 3 c. c. de sérum dans le péritoine, aux mêmes intervalles que ci-dessus.

Le témoin (450 grammes) meurt en 50 heures.

Tous les cobayes qui ont reçu le sérum moins de 3 heures après la toxine survivent. Ceux qui ont reçu le sérum 6 et 12 heures après, résistent plusieurs jours; quelques-uns même ne meurent pas.

Les effets du sérum sont donc très satisfaisants. Avec de fortes doses les résultats sont encore meilleurs.

Ainsi, un cobaye de 450 grammes ayant reçu sous la peau 6 c. c. de sérum 6 h. 1/2 après l'infection par 1/200 de c. c. de toxine a survécu. Il en a été de même pour un cobaye qui avait reçu la même dose dans le péritoine.

Enfin un cobaye de 400 grammes ayant reçu dans la patte gauche 1/200 de c. c. de toxine, a reçu, dans le péritoine, 14 heures plus tard, 12 c. c. de sérum, alors qu'il présentait déjà une gêne très évidente de la patte. Le tétanos suit son cours, paralysie de la patte gauche, puis de la droite, du train antérieur, etc. Le huitième jour je lui fais une injection de 5 c. c. de sérum. Peu à peu les phénomènes tétaniques s'amendent et aujourd'hui (6 mois après) l'animal est tout à fait bien portant.

Conclusion. — Les expériences précédentes permettent d'affirmer qu'avec la toxine obtenue par la culture à l'air libre du bacille de Nicolaïer en symbiose avec le *B. subtilis*, on obtient un sérum tout aussi actif qu'avec la toxine obtenue par le procédé classique. Le nouveau procédé de culture peut donc être employé à la place de l'ancien pour la préparation du sérum anti-tétanique.

RECHERCHES SUR LES MODES D'UTILISATION DU CARBONE TERNAIRE PAR LES VÉGÉTAUX ET LES MICROBES

PAR P. MAZÉ

TROISIÈME MÉMOIRE

Après avoir examiné de quelle façon l'*Eurotiopsis Gayoni* emprunte son carbone au sucre interverti et à l'alcool, il était tout indiqué de rechercher le mode d'assimilation de quelques autres aliments ternaires.

M. Laborde a montré que ce champignon se développe très bien lorsqu'on lui offre, comme unique aliment carboné, l'un des corps suivants : amidon, dextrine, maltose, lactose, galactose, mannite, glycérine, acide lactique, acide succinique, etc...

De tous ces composés, ce sont évidemment les trois derniers qui offrent le plus d'intérêt, car tous les autres passent par le stade alcool, bien qu'il soit quelquefois impossible de constater, au contact ou à l'abri de l'air, la formation intérimaire d'alcool.

Il en est ainsi, par exemple, de la mannite, et cependant, si l'on s'en rapporte aux résultats fournis par M. Laborde, on voit que les cultures développées aux dépens de la mannite conduisent aux mêmes chiffres que celles qui ont été alimentées avec du sucre interverti ou du dextrose, que l'on considère la vitesse du développement, le rendement, ou la valeur de la dépense d'entretien. Il faut en conclure que la mannite est utilisée de la même façon que le dextrose, avec cette différence que l'hydrogène d'une fonction alcoolique primaire ou secondaire doit être éliminé à l'état d'eau par fixation d'oxygène libre.

Les résultats relatifs à la glycérine ou à l'acide lactique semblent attester la mise en œuvre d'un processus d'assimilation différent de celui qui préside à l'incorporation du carbone des sucres.

La différence peut n'être qu'apparente ; la glycérine, tout en

étant un homologue de la mannite, peut offrir une résistance plus grande à l'action de l'Eurotiopsis.

De même, l'acide lactique, grâce à sa fonction acide, impose au champignon des conditions de milieu différentes de celles que lui crée le liquide Raulin ordinaire.

Mais c'est à l'expérience à se prononcer sur ces questions, qui, en raison du rôle alimentaire de la glycérine et de la fréquence de l'acide lactique dans les fermentations microbiennes, présentent un intérêt général. Je commencerai par l'étude de la glycérine, en suivant le plan que j'ai déjà adopté dans le 2^e mémoire.

II

Avant d'exposer les résultats des expériences, je dois faire quelques observations sur les caractères que présentent les cultures sur glycérine.

La culture originelle dont je me suis servi ne se développait pas sur milieu Raulin dans lequel on remplaçait le sucre par la glycérine. Pour obtenir des cultures à développement abondant et rapide, j'ai accoutumé l'Eurotiopsis à cet aliment pendant un an, par des passages successifs effectués au moyen de spores prélevées sur des cultures jeunes. Mais la sporulation était tout à fait irrégulière au début de mes essais; la culture était très peu abondante, le mycélium émergeait seulement le long des parois des vases, le voile ne se formait pas vers le centre, si mince que fût la couche liquide; au bout de plusieurs mois seulement j'ai pu obtenir un voile complet, mais très pauvre en spores et en filaments aériens. Ce n'est que lorsque ceux-ci se montrent en abondance sur toute la surface du voile, dans les quatre premiers jours qui suivent l'ensemencement, qu'on peut obtenir un développement rapide avec un rendement élevé; on peut, dans ces conditions, compter sur des résultats comparables. Tous ceux que j'ai rapportés dans ce mémoire ont été fournis par des cultures abondamment pourvues de filaments aériens qui portaient toujours de nombreuses conidies.

La glycérine a été employée à la dose de 5 0/0 en poids; mais on sait combien il est difficile de doser convenablement la

glycérine, c'est pour cela que je n'ai pas tablé sur le chiffre initial pour évaluer la quantité de glycérine consommée par les cultures. Ce chiffre a été déterminé de la façon suivante : on préparait un certain nombre de récipients qui recevaient tous le même volume de milieu de culture, on les stérilisait et on en ensemait la moitié, le reste était conservé. Quand on arrêtait une culture, on dosait la glycérine à la fois dans le liquide de la culture et dans un récipient réservé; la différence donnait la glycérine absorbée par le champignon. En soumettant ainsi les deux dosages simultanément au même traitement, on avait plus de chances d'obtenir des chiffres comparables; la méthode que j'ai employée est celle de Pasteur; le liquide Raulin s'y prête assez en raison de sa faible teneur en extraits.

Les expériences ont été faites dans les mêmes conditions et avec les mêmes appareils que celles que j'ai réalisées avec le sucre et l'alcool.

Voici maintenant les résultats obtenus dans des expériences disposées de façon à évaluer la quantité d'acide carbonique produit.

TABLEAU I

N ^o d'ordre.	Durée de l'expérience jours.	Poids du mycélium. mgr.	Glycérine consommée. mgr.	Rendement rapporté à 100 de glycérine.	CO ² dégagé. mgr.
1	8	413	1162,3	35,5	814,1
2	8	362,5	1185	30,6	900

Si l'on rapproche ces chiffres de ceux qui ont été fournis par les cultures sur milieu sucré (2^e mémoire, tableau I), on voit qu'ils présentent respectivement entre eux les mêmes relations. Le rendement oscille au voisinage des mêmes valeurs, de même que la quantité d'acide carbonique dégagé rapportée au poids total de la culture; il n'y a que la durée de l'expérience qui diffère, et cela grâce à la période de début qui est toujours plus difficile qu'avec le sucre.

D'après ces résultats, on peut prévoir déjà que l'assimilation de la glycérine s'effectue probablement de telle façon que le mycélium lui emprunte ses éléments dans le même rapport qu'au sucre, à savoir que la moitié de la molécule de glycérine est utilisée, pendant que l'autre est éliminée à l'état d'acide carbonique et d'eau. Mais avant de se prononcer sur le mécanisme

de ce dédoublement, il est prudent de s'entourer de nombreux renseignements, car la glycérine est susceptible de fournir les dérivés les plus variés.

Il est cependant vraisemblable que la première modification qu'elle subit, doit consister dans l'élimination de deux atomes d'hydrogène par voie d'oxydation, pour aboutir à un groupement aldéhydique ou cétonique. C'est d'ailleurs, comme je l'ai déjà fait remarquer, ce qui se passe avec la mannite.

L'oxygène emprunté à l'atmosphère en vue de cette transformation sera donc en excès sur la quantité exigée pour l'incorporation du carbone du sucre, lequel se dédouble sans oxydation préalable, pourvu, toutefois, que la dislocation que subit le produit dérivé soit de même nature que celle qui aboutit à la formation de l'alcool et de l'acide carbonique aux dépens des hexoses.

Si, par conséquent, on a constaté dans les éléments du tableau I un parallélisme assez étroit avec les chiffres fournis par les cultures sur milieu sucré, cette concordance n'existera plus dès que l'on fera intervenir l'oxygène absorbé.

Voici, en effet, les résultats fournis par les cultures sur milieu glyciné, en atmosphère confinée. Le tableau II donne les chiffres définitifs de l'expérience; le tableau III renferme les éléments qui ont permis de les calculer. Les volumes de gaz sont ramenés à la pression de 760 et à la température de 0°.

TABLEAU II

Poids du mycélium.....	mgr.	456,5
Durée de l'expérience.....	jours.	4
Glycérine consommée.....	mgr.	409,4
CO ² dégagé en volume.....	c. c.	132,1
— en poids.....	mgr.	249,77
— par unité de poids et de temps.....		0,42
O. consommé en volume.....	c. c.	158,4
— en poids.....	mgr.	226,54
— par unité de poids et de temps.....		0,36
Rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$ en volume.....		0,83

TABLEAU III

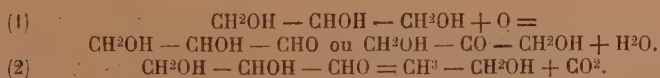
Volume d'air initial.....	c. c.	833,6
— final.....	—	807,4
Composition centésimale de l'atmosphère.	{ Azote.....	81,57
	{ Oxygène.....	2,07
	{ CO ²	16,36
Composition absolue.	{ Az.....	c. c. 684,3
	{ O.....	17,2
	{ CO ²	— 132,1

La tableau III n'appelle aucune observation en dehors de celles que j'ai faites dans le 2^e mémoire à propos du tableau correspondant, si ce n'est que l'atmosphère confinée ne renfermait pas d'hydrogène.

Le tableau II nous fournit le renseignement cherché; le quotient respiratoire est 0,83, il tient à peu près le milieu entre les chiffres 1,17 et 0,508 fournis respectivement par le sucre et l'alcool; cela prouve qu'il y a un excédent d'oxygène absorbé à mettre à l'actif de la glycérine, si on met en parallèle les chiffres 0,83 et 1,17; l'excédent est en faveur de l'alcool si on compare les chiffres 0,83 et 0,508. Ce résultat est conforme au fait prévu, à savoir que la glycérine perd deux atomes d'hydrogène pour donner de l'eau par fixation d'oxygène libre; comme on connaît le poids de glycérine consommée, on peut déterminer le volume d'oxygène qui a été absorbé par cette transformation. Le calcul donne 50 c. c. Ceci va nous permettre de calculer d'autre part le quotient respiratoire fictif qui correspondrait à une culture d'Eurotiopsis faite avec de l'aldéhyde glycérique, ou de la dioxyacétone. Le rapport qui correspond à ces deux composés, tous deux possibles, est :

$$\frac{132,1}{158,4-50} = 1,2.$$

Ce chiffre est, comme on le voit, suffisamment voisin de 1,17 pour nous permettre, avec l'aide des renseignements fournis par le tableau I, de conclure que le mécanisme de l'assimilation de la glycérine comporte les stades suivants :



Mais l'expérience ne permet pas d'opter entre les dérivés cétonique ou aldéhydique de la glycérine. Comme M. Laborde l'a montré, il est impossible de mettre en évidence les produits de dégradation de la glycérine par l'Eurotiopsis : soit en immergeant le mycélium jeune tout en laissant libre accès à l'air dans les récipients de culture, soit en lui imposant des conditions d'anaérobiose complète, il n'y a jamais ni production de corps

réducteurs dérivés de la glycérine, ni fermentation avec mise en liberté d'hydrogène.

Malgré cette absence de preuve expérimentale directe, on n'en est pas moins fondé à conclure, abstraction faite de la formation préalable d'une molécule d'eau par molécule de glycérine consommée, que l'assimilation de cet aliment se fait suivant le même processus que celle du dextrose, ainsi qu'en témoignent tous les faits exposés jusqu'ici.

On connaît, d'ailleurs, beaucoup de microbes qui permettent de suivre l'un ou l'autre des modes de dégradations (1) et (2). Il n'y a donc là rien de neuf.

Dans le tableau II, j'ai fait figurer, comme pour le sucre et l'alcool, les chiffres relatifs au dégagement d'acide carbonique ou à l'absorption d'oxygène par unité de poids de mycélium dans l'unité de temps; mais ces chiffres se prêtent aux critiques formulées dans le 2^e mémoire et pour les mêmes raisons.

Pour traduire avec une précision suffisante la valeur des dépenses de construction et d'entretien, nous allons encore avoir recours à la formule de M. Duclaux. Mais auparavant, il faut déterminer par l'expérience le poids moyen des cultures.

Le tableau IV renferme les chiffres fournis par une série d'expériences réalisées dans ce but, en prenant toutes les précautions indiquées dans le 2^e mémoire pour obtenir des cultures comparables. Chaque culture était faite avec 21 c. c. de glycérine à 5 0/0 placés dans des vases coniques de 250 c. c.

TABLEAU IV

Nos d'ordre.	Durée des cultures. jours et heures.	Poids du mycélium. mgr.	Glycérine consommée. mgr.	Rendement p. 100 de glycérine. consommée.
1	2 j. 15 h.	7,3	—	—
2	3 —	11,4	—	—
3	3 — 15 —	28,6	44,7	—
4	4 —	35,5	—	—
5	4 — 16 —	72,9	171,6	42,4
6	5 — 16 —	175,8	—	—
7	6 — 16 —	215,2	621,4	34,6
8	7 — 16 —	266,2	852	31,2
9	8 — 16 —	288,9	979	29,5

Pour calculer le poids moyen de ces cultures, il suffit de construire la courbe du développement dans le temps; on obtient

ainsi, en portant les temps sur la ligne des abscisses et les poids du mycélium en ordonnées, la courbe figure 1.

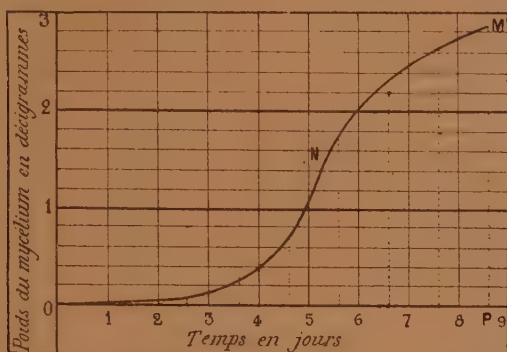


Fig. 1 — Développement de l'Eurotiopsis sur milieu glycéroiné.

En appliquant la méthode de Simpson au calcul des aires des différentes portions de courbe définies par les cultures du tableau IV, on obtient la hauteur des rectangles équivalents; cette hauteur représente le poids moyen des cultures; si on l'exprime en fonction de l'ordonnée maximum correspondante, on obtient les valeurs des coefficients $1/n$ de la formule (3). Ces valeurs sont les suivantes (tableau V); les numéros des cultures sont empruntés au tableau IV.

TABLEAU V

Nos des cultures.	Valeurs de $\frac{1}{n}$.
5	0,10
6	0,197
7	0,26
8	0,324
9	0,37

Ces chiffres montrent que la valeur du poids moyen est une quantité variable qui augmente rapidement avec le temps, pourvu, bien entendu, que les cultures soient arrêtées au moment où il y a encore des aliments non consommés. La loi du développement des cultures en présence de la glycérine n'est pas encore une fonction parabolique. On remarque, en outre, que ces chiffres varient entre les mêmes limites, à peu près, que les chiffres correspondants fournis par les cultures sur

milieu sucré. Il en est de même de ceux qui expriment le rendement (courbe fig. 2); cette courbe a été construite en portant en abscisses les quantités de glycérine consommée; et en ordonnées les poids de mycélium correspondants. Le rendement est exprimé par le rapport d'une ordonnée à l'abscisse correspondante.

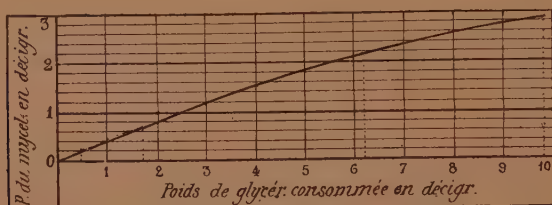


Fig. 2. — Courbe du rendement (milieu glycéринé).

Pour calculer avec ces données la valeur de la dépense d'entretien suivant l'âge des cultures, il suffit de remplacer dans la formule connue (3) les valeurs de P fournies par l'expérience, et celles de $1/n$ consignées au tableau V.

$$(3) \quad S = aP + \frac{1}{n} P b t.$$

Je rappelle pour mémoire que S représente le poids d'alimentaire consommé; a un coefficient auquel les expériences rapportées dans le cours de ce mémoire assignent la valeur 2; b la dépense d'entretien moyenne par unité de poids de mycélium et par unité de temps; t la durée de la culture.

Cette formule peut être appliquée de deux façons différentes, suivant que l'on rapporte les constantes a et b à la molécule entière de glycérine, ou que l'on ne considère que la portion de molécule réellement utilisée, laquelle n'est autre que l'aldéhyde éthylique.

On a donc le choix entre les deux formules suivantes :

$$(4) \quad S = 2P + \frac{1}{n} P b t,$$

$$(5) \quad \frac{S}{2} = P + \frac{1}{n} P b t.$$

J'emploierai la formule (5) qui fournit des valeurs de b deux

fois plus faibles que la formule (4); mais elle a l'avantage de ne tenir compte que de la fraction de molécule de glycérine incorporée; c'est d'ailleurs celle que j'ai déjà utilisée dans le cas du sucre.

En effectuant les calculs, on obtient pour b les valeurs suivantes, relatives aux cultures désignés, dans le tableau V.

TABLEAU VI

N ^{os} des cultures	Valeurs de b .
5	0,38
7	0,256
8	0,241
9	0,22

Ces valeurs sont décroissantes, comme celles qui ont été fournies par les cultures sur milieu sucré. Elles expriment la dépense moyenne d'entretien pour les différentes cultures, ou pour une même culture à différents stades de son développement; or, une culture se compose de cellules jeunes et de cellules vieilles; comme la dépense d'entretien diminue à mesure qu'augmente la proportion de ces dernières, il faut en conclure que le mycélium d'Eurotiosis perd rapidement la faculté de se nourrir de glycérine même en présence d'un grand excès d'aliment. L'étude de l'alimentation sucrée nous a conduit à la même conclusion: j'ai attribué le fait à la destruction de la zymase par voix d'oxydation. Le phénomène est plus complexe lorsqu'il s'agit de la glycérine, car l'action dédoublante est précédée d'une action oxydante; si cette dernière exige des conditions qui gênent la première, on comprend que le vieillissement des cellules nourries avec de la glycérine soit encore plus rapide que dans le cas où on leur offre du sucre interverti. De là la diminution de la vitesse d'accroissement du poids des cultures et la faible élévation de la dépense d'entretien, car on ne saurait interpréter d'une autre manière les différences que présentent les cultures sur milieu glycéliné avec celles qui se développent sur milieu sucré, puisque l'expérience prouve que les transformations ultérieures que subissent les deux aliments se confondent.

J'aurais pu montrer que le vieillissement des cellules se traduit dans le cas de l'alimentation glycélinée par une augmentation des matières cellulosiques et des produits saccharifiables; je me suis borné à établir qu'il n'y a pas de production de

glycogène, ou, d'une manière plus générale, transformation de la glycérine en hexoses, avant son assimilation.

Pour le démontrer, j'ai placé une culture bien développée, pesant environ 2 gr. 5 à l'état sec, dans des conditions d'anaérobiose complète : on n'observe aucun dégagement gazeux. La pression à l'intérieur des ballons ne varie pas si longtemps qu'on laisse les choses en l'état ; cela prouve que le mycélium ne renferme aucune substance capable de se dédoubler en alcool et acide carbonique, et que, par conséquent, la glycérine n'est pas non plus mise en réserve à l'état de glycogène.

Il faut en conclure que le processus d'assimilation de la glycérine est bien celui que j'ai indiqué, bien qu'il soit impossible de provoquer l'accumulation des substances intermédiaires dans les liquides de culture.

L'étude du rendement, celle des échanges gazeux, l'évaluation de la dépense moyenne d'entretien, constituent un ensemble d'arguments suffisants pour appuyer cette conclusion qui peut seule s'accorder avec les faits expérimentaux.

III

L'acide lactique est un aliment pour l'Eurotiopsis ; l'accoutumance à l'acide lactique du mycélium cultivé sur milieu Raulin ordinaire se fait très facilement ; deux ou trois passages suffisent pour obtenir des cultures abondantes ; mais il faut, comme toujours, prendre la précaution de n'employer qu'une très faible épaisseur de liquide. L'Eurotiopsis peut se développer très bien en présence de 5 0/0 d'acide lactique inactif en volume. Les filaments aériens restent courts ; mais l'aptitude à la production des conidies devient très grande ; le mycélium se couvre d'une couche abondante de spores qui donnent au voile un aspect farineux.

Pour étudier l'assimilation de l'acide lactique, j'ai réalisé les expériences que j'ai déjà décrites assez souvent pour qu'il soit inutile d'y revenir. Je me contenterai donc d'exposer les résultats qu'elles ont fournis.

TABLEAU VII

N ^{os} d'ordre.	Durée de l'expérience. jours.	Poids du mycélium. mgr.	Acide lactique consommé. mgr.	Rendement rapporté à 100 d'acide lactique.	CO ² dégagé. mgr.
1	8	192,2	871,4	22	848
2	8	201	832,7	24,4	822

TABLEAU VIII

CULTURE EN ATMOSPHERE CONFINÉE

Poids du mycélium.....	mgr.	85,8
Durée de l'expérience.....	jours.	4,29
Acide lactique consommé.....	mgr.	309,8
CO ² dégagé en poids.....	—	320,76
— en volume.....	c. c.	163,12
O absorbé en poids.....	mgr.	222,42
— en volume.....	c. c.	151,7
Rapport $\frac{CO_2}{O}$ en volume.....		1,07

TABLEAU IX

ÉLÉMENTS UTILISÉS DANS LE CALCUL DU TABLEAU VIII

Volume d'air initial.....	c. c.	827,7
Volume d'air final.....	—	839,1
Composition { Azote.....		77,93
centésimale de { O.....		2,63
l'atmosphère. { CO ²		19,44
Composition { Az.....	c. c.	653,92
absolue. { O.....	—	22,06
{ CO ²	—	163,12

TABLEAU X

DÉVELOPPEMENT DE L'EUROTIPSIS SUR MILIEU LACTIQUE A 60/0 EN POIDS

N ^{os} d'ordre des cultures.	Durée des cultures. jours et heures.	Poids du mycélium. mgr.	Acide lactique consommé. mgr.	Rendement p. 100 d'acide lactique consommé.
1	2 j. 45 h.	16,8	75,6	22,3
2	3 —	22,2	100,8	21,9
3	3 — 15 —	84,6	385,6	21,4
4	4 — 16 —	164,7	768,4	21,7
5	5 — 16 —	219,1	1007	21,6
6	6 — 16 —	257,6	1187,8	21

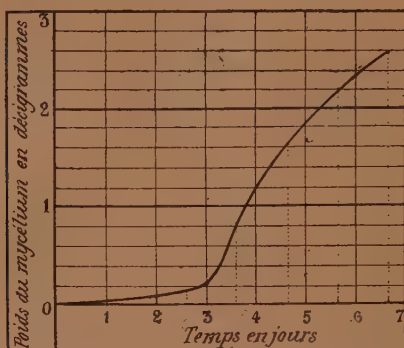


Fig. 3. — Développement de l'Eurotiosis sur milieu lactique.

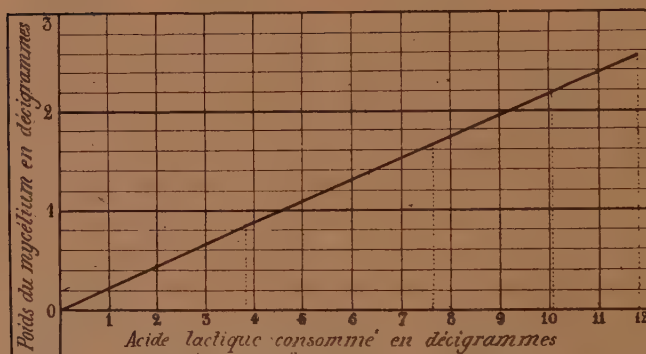


Fig 4. — Courbe du rendement (milieu lactique). (La longueur des ordonnées a été multipliée par 2 pour raison de symétrie.)

TABLEAU XI

VALEURS DU RAPPORT $\frac{1}{n}$ DU POIDS MOYEN AU POIDS FINAL DES CULTURES,
TIRÉES DE LA COURBE FIG. 3

Nos des cultures (les mêmes qu'au tableau IX.)	Valeurs de $\frac{1}{n}$
3	0,185
4	0,226
5	0,300
6	0,356

TABLEAU XII

VALEURS DE b (DÉPENSE MOYENNE D'ENTRETIEN) TIRÉES DE LA FORMULE (3)

Nos des cultures.	Valeurs de b .
3	1,91
4	1,26
5	0,76
6	0,53

Le tableau VII met deux faits en évidence : la faiblesse du rendement, et la proportion élevée d'acide carbonique dégagé; ces résultats s'écartent nettement de ceux qu'on a obtenus avec les autres substances alimentaires étudiées; l'impression qui s'en dégage est que le mode d'utilisation de l'acide lactique diffère de celui qu'on a observé avec le sucre, l'alcool et la glycérine.

Mais le tableau VIII nous ramène à d'autres idées; si le dégagement d'acide carbonique est abondant, l'absorption d'oxygène est aussi très active; la valeur du quotient respiratoire est 1,07, chiffre suffisamment rapproché de 1,17 pour nous permettre de conclure que le mécanisme de l'assimilation de l'acide lactique doit être rapproché de celui des sucres.

Ce corps a d'ailleurs la même composition centésimale que les hexoses, et il présente avec eux un rapport physiologique étroit, puisqu'il peut en dériver, sans perte de matière, par voie de dédoublement diastasique très probablement, bien que le fait n'ait pas encore été démontré expérimentalement.

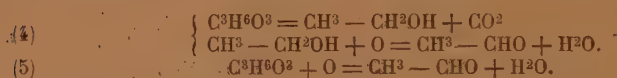
Ses fonctions chimiques imposent cependant aux microbes qui s'en nourrissent des conditions de vie tellement différentes de celles que leur constituent les substances neutres, comme les sucres et les alcools, qu'on n'a pas le droit de s'étonner de voir s'exalter ou s'atténuer en sa présence certaines fonctions physiologiques; c'est à cette cause qu'il faut rapporter l'activité si grande des échanges gazeux, entre le mycélium et l'air, lorsqu'on cultive l'*Eurotiopsis* sur un milieu renfermant 6 0/0 d'acide lactique.

L'exaltation des phénomènes de combustion en présence d'acide lactique entraîne un certain nombre de conséquences dont les tableaux X et XII traduisent le sens et la valeur.

C'est ainsi que le rendement, comme je l'ai déjà fait remarquer, est extrêmement faible, eu égard aux chiffres que le sucre interverti, l'alcool et la glycérine nous ont fournis; ce qui est remarquable aussi, c'est sa constance, mais cette particularité est due à l'intervention d'une autre cause : le vieillissement rapide des cultures. Tout se passe comme si le mycélium perdait en très peu de temps, peut-être en quelques heures, le pouvoir de se nourrir d'acide lactique; ce résultat est inscrit sous une forme un peu plus parlante dans les chiffres du tableau XII, qui

donne les valeurs de b , c'est-à-dire la dépense moyenne d'entretien suivant l'âge des cultures, calculée en considérant l'alcool comme la fraction utilisable de l'acide lactique. Ainsi, pendant que le poids de la culture varie du simple au triple, la dépense moyenne d'entretien suit une progression inverse. Pour qu'il en soit ainsi, il faut admettre que la formation d'une nouvelle cellule est accompagnée de la mort d'une autre, la mort étant définie, dans ce cas particulier, par la perte de la faculté de se servir de l'acide lactique comme aliment. On s'explique de cette façon que le rendement demeure à peu près constant, et que la courbe figure 4 soit représentée par une droite, à très peu de chose près, jusqu'à la destruction complète de l'acide lactique.

Tous ces faits concordent donc à montrer que l'utilisation de l'acide lactique se fait suivant l'un des processus suivants :



Les deux conduisent au même résultat, et sont compatibles avec les données précédentes fournies par l'expérience; mais au point de vue physiologique, il y a entre eux une différence considérable.

La première transformation n'aurait pas encore été observée, du moins à ma connaissance. La seconde est connue depuis longtemps des chimistes et s'obtient par l'électrolyse de l'acide lactique, ou par l'action à chaud du bioxyde de plomb ou du permanganate de potassium en présence d'acide sulfurique.

On se trouve ainsi conduit à établir expérimentalement le dédoublement de l'acide lactique en alcool et acide carbonique, ou à obtenir sa transformation en aldéhyde par voie d'oxydation par l'intermédiaire du mycélium.

Il y a beaucoup d'observations en microbiologie qui tendent à donner à la première transformation une certaine vraisemblance, sinon un peu de probabilité. Un grand nombre de ferments lactiques proprement dits produisent, à côté de l'acide lactique, une quantité plus ou moins grande d'alcool. D'autres microbes, qui dans certaines conditions produisent des quantités assez élevées d'acide lactique, donnent naissance à de

l'alcool éthylique; ce sont, parmi les plus connus : les pneumocoques de Friedlander et le ferment mannitique de Gayon. Ces deux composés peuvent provenir du sucre indépendamment l'un de l'autre, mais il n'est pas invraisemblable que le second dérive du premier.

L'expérience montre que le mycélium jeune d'*Eurotiosis Gayoni* développé sur milieu minéral additionné de 6 0/0 d'acide lactique produit de petites quantités d'alcool lorsqu'on le submerge dans des solutions d'acide lactique dont la concentration varie de 1 à 5 0/0. Les résultats relatifs à cette question seront exposés dans un autre mémoire; je me contenterai d'ajouter ici que l'on ne peut pas rapporter cet alcool à des matières hydrocarbonées qui subiraient une simplification lente dans les conditions de l'expérience, pour aboutir en dernier lieu à la production d'alcool sous l'influence de la zymase.

On constate également la présence de quantités sensibles d'aldéhyde éthylique; mais on ne peut pas admettre que ce composé résulte directement du dédoublement de l'acide lactique par un mécanisme d'oxydation suivant la transformation (5). La présence d'alcool libre rattache le mécanisme d'assimilation de cet aliment aux transformations (4).

Les renseignements consignés par le tableau XII sont d'ailleurs conformes à ces résultats; on a vu en effet dans le 2^e mémoire que la valeur de la dépense d'entretien chez le mycélium développé sur milieu alcoolisé va en croissant jusqu'à l'épuisement complet de l'aliment ternaïre, dans les conditions où je me suis placé. Ce fait caractérise un processus d'assimilation qui ne fait intervenir qu'une diastase oxydante; il se distingue en effet complètement de celui qui préside à l'incorporation du carbone du sucre interverti ou de la glycérine, lequel exige, comme nous l'avons vu, l'intervention de diastases dédoublantes à côté de celle qui doit fixer l'oxygène atmosphérique sur l'alcool; avec la glycérine et le sucre, la dépense moyenne d'entretien diminue régulièrement du commencement à la fin de la culture; ce caractère est encore plus accentué avec l'acide lactique, ce qui montre bien que son dédoublement n'est pas dû uniquement à un phénomène d'oxydation.

Dans le 2^e mémoire, j'ai utilisé dans mes démonstrations un autre ordre de faits qui se présentent plutôt comme la con-

clusion des résultats enregistrés dans les expériences antérieures : ce sont ceux qui ont trait à la composition élémentaire du mycélium. Ils peuvent jouer ici le même rôle, et on peut même ajouter que le champignon développé sur milieu glycérimé ou lactique doit présenter la même composition centésimale que celui qui a poussé sur milieu sucré ou alcoolisé, à condition de le prendre à des états aussi comparables que possible.

C'est ce que montrent les chiffres du tableau suivant :

TABLEAU XIII

	Glycérine Culture n° 1. Tableau I.	Acide lactique Culture n° 2. Tableau VII.
C.....	48,89	51,51
H.....	7,1	7,24
Az.....	4,67	4,73
O + S.....	39,34	36,52

Ces chiffres doivent être rapprochés de ceux des colonnes 2 et 3, tableau XIV, 2^e mémoire ; on voit qu'ils présentent avec ces derniers des rapports assez étroits.

Je n'ai pas cherché à établir, par l'analyse, les variations qui se produisent dans la composition élémentaire, suivant l'âge des cultures, du mycélium développé aux dépens de la glycérine ou de l'acide lactique. Il est à peu près évident qu'elles sont de même nature que celles qui ont été exposées dans le 2^e mémoire, c'est-à-dire que le vieillissement des cultures a pour conséquence un enrichissement du mycélium en oxygène et un appauvrissement en carbone, hydrogène et azote.

IV

CONCLUSIONS

Deux conclusions se dégagent des recherches que j'ai exposées dans le cours du 2^e et du 3^e mémoire.

1^o Les phénomènes de digestion qui préparent l'incorporation du carbone ternaire à la substance vivante varient suivant la nature de l'aliment offert aux champignons ;

2^o La composition élémentaire du mycélium est constante pour les quatre aliments étudiés, si on le prend à un état de développement à peu près comparable dans tous les cas.

Les sucres, l'alcool, la glycérine, l'acide lactique se rédui-

sent avec plus ou moins de déchets à l'aldéhyde qui constitue la portion utilisée de chacun de ces aliments, d'où la variation dans le processus de digestion. Le mycélium nourri avec des composés tout à fait différents n'utilise donc en définitive qu'une même substance, d'où la constance dans la composition centésimale.

L'Eurotiopsis peut se développer aux dépens d'autres matières ternaires, telles que l'acide succinique, l'acide acétique, qui ne semblent pas se prêter aussi facilement à la production d'aldéhyde éthylique; il serait intéressant de voir jusqu'à quel point le travail de la digestion se rapproche de ce but, et par conséquent de se rendre compte du degré de généralité des conclusions précédentes appliquées seulement aux aliments ternaires.

M. Laborde a montré que l'Eurotiopsis peut emprunter son azote aux composés les plus variés; les résultats qu'il a obtenus avec les matières albuminoïdes prouvent qu'une fraction importante de leur carbone contribue, à côté de leur azote, à l'édification des substances vivantes; c'est dire qu'une même cellule peut emprunter ses éléments constitutants à diverses sources alimentaires et, sans doute, suivant des mécanismes très variés.

Le déchet éliminé par l'Eurotiopsis pendant le travail de la digestion, se traduit pour les sucres, l'alcool, la glycérine et l'acide lactique par une production d'acide carbonique et d'eau; le quotient respiratoire est donc une fonction de ce déchet et les variations de celui-là peuvent être prévues dans une certaine mesure par la nature de celui-ci; on a vu jusqu'à quel point ce fait s'est vérifié dans le cours de ce travail.

Mais je dois faire remarquer que la valeur du quotient respiratoire n'est pas une quantité constante; elle varie pour un même aliment suivant l'âge des cultures. Ce fait, que je n'ai pas vérifié directement, découle de la composition élémentaire du mycélium à diverses époques de son développement; on a vu en effet qu'il s'enrichit en oxygène; le quotient respiratoire qui est 4,2 à peu près, tout à fait au début de la culture, dans le cas de l'alimentation hydrocarbonée, doit décroître peu à peu et tendre vers l'unité.

Les résultats inscrits au tableau V, 2^e mémoire, permettent de dissocier les deux sources de production d'acide carbonique ou d'absorption d'oxygène dont la résultante s'exprime par le quotient respiratoire.

La plus importante, du moins dans le cas de l'alimentation hydrocarbonée, est celle qui représente les résidus du travail de digestion; l'équation suivante permet de les calculer :



Il y a deux molécules de CO^2 dégagé pour une d'O absorbé, le rapport $\frac{CO^2}{O}$ fourni par cette double transformation est donc égal à 2.

L'autre source de CO^2 a son origine dans les combustions qui se produisent au sein des substances vivantes. Le tableau V nous fournit tous les éléments nécessaires à l'évaluation des deux termes du rapport $\frac{CO^2}{O}$ résultant de ces combustions.

Il y a eu, en effet, dans l'expérience visée, 630 milligrammes de sucre consommé, lesquels ont absorbé 112 milligrammes d'oxygène et dégagé 308 milligrammes d'acide carbonique pour se transformer en aldéhyde. Les différences entre ces chiffres et les quantités totales de CO^2 éliminé et d'O consommé expriment la part qui revient aux combustions des substances vivantes. En faisant le rapport de leur volume, on trouve comme quotient 0,70; c'est la valeur qu'on aurait obtenue si on avait pu faire absorber l'aldéhyde au champignon, comme unique aliment carboné; mais l'Eurotiopsis ne se développe pas en présence de l'aldéhyde même à dose très faible.

Il est évident que si l'on effectue le même calcul sur les chiffres fournis par les expériences analogues réalisées avec la glycérine et l'acide lactique, on doit retrouver un chiffre relativement voisin de 0,70.

La vérification fournit le chiffre 0,55 pour la glycérine, et 0,70 pour l'acide lactique.

Mais à côté de ces faits concordants, il ne faut pas oublier les différences qu'on a relevées, et qui ne manquent pas d'intérêt, je veux parler de l'intensité relative des échanges gazeux suivant la nature des aliments ou l'âge des cultures; mais ces faits semblent relever dans une certaine mesure de la destruction de la zymase ou des autres diastases que le mycélium met en œuvre dans la dislocation préalable des aliments qu'il incorpore à sa substance; leur interprétation se trouvera donc mieux à sa place à la suite de l'étude des conditions de la formation et de

la destruction de la zymasé, que j'aborderai dans le mémoire suivant.

Il me reste encore à rappeler la conclusion la plus naturelle du 2^e et du 3^e mémoire, celle qui y a été particulièrement visée : c'est que l'Eurotiopsis, qui fait fermenter le sucre avec une énergie comparable à celle de la levure, est en même temps capable d'assimiler tous les produits de la fermentation alcoolique : alcool, glycérine, acide succinique. M. Laborde l'avait déjà établi ; mon but consistait surtout à montrer que là où on constate seulement la disparition du sucre et la production corrélative de substance vivante, il y a malgré tout production d'alcool, d'aldéhyde et peut-être d'acide lactique ; en d'autres termes, si les produits des fermentations s'accumulent dans les tissus d'un végétal, ou dans le milieu ambiant, ce n'est pas parce qu'ils forment des résidus inutilisables, mais bien parce que l'être vivant est placé dans des conditions qui l'empêchent de tirer parti du travail qu'il accomplit.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES A L'INSTITUT PASTEUR

EN 1901

PAR M. EUGÈNE VIALA

Préparateur au service antirabique.

I

Pendant l'année 1901, 1,321 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur : 8 sont mortes de la rage ; chez 3 d'entre elles, la rage s'est déclarée avant la fin du traitement ; ces 3 personnes ne seront pas comptées parmi les traitées.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées.....	1,318
Morts.....	5
Mortalité 0/0.....	0,38

Dans le tableau suivant, ces chiffres sont rapprochés de ceux fournis par les statistiques des années précédentes.

Années.	Personnes traitées.	Morts.	Mortalité 0/0.
1886	2.671	25	0,94
1887	1.770	14	0,79
1888	1.622	9	0,55
1889	1.830	7	0,38
1890	1.540	5	0,32
1891	1.359	4	0,25
1892	1.790	4	0,22
1893	1.648	6	0,36
1894	1.387	7	0,50
1895	1.520	5	0,33
1896	1.308	4	0,30
1897	1.521	6	0,39
1898	1.465	3	0,20
1899	1.614	4	0,25
1900	1.420	4	0,28
1901	1.321	5	0,38

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

TABLEAU A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

TABLEAU B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

TABLEAU C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1901.

	MORSURES à la tête.			MORSURES aux mains.			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.	Traités.	Morts.	Mortalité 0/0.
Tableau A.	20	0	0	93	0	0	58	0	0	171	0	0
Tableau B.	80	0	0	521	4	0,77	184	0	0	785	4	0,51
Tableau C.	23	1	4,34	186	0	0	153	0	0	362	1	0,27
	123	1	0,79	800	4	0,30	395	0	0	1318	5	0,38

III

Au point de vue de leur nationalité, les 1,318 personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

Amérique	1
Belgique	1
Bulgarie	2
Grèce	1
Italie	1
Irlande	3

Soit 9 étrangers et 1,309 Français.

Voici la répartition par départements des 1,309 Français.

Il ne faut pas oublier, dans la comparaison avec les tableaux antérieurs, que cinq Instituts antirabiques fonctionnent aujourd'hui qui n'existaient pas autrefois : Lille, Marseille, Montpellier, Lyon et Bordeaux drainent les mordus dans la région environnante.

Ain	1	Finistère.....	12	Oise	15
Aisne	4	Gard	3	Oran	0
Allier	9	Garonne (Haut-)...	0	Orne	7
Alpes (Basses-).....	0	Gers	13	Pas-de-Calais.....	3
Alpes (Hautes-).....	0	Gironde.....	0	Puy-de-Dôme	19
Alpes (Maritimes-)...	0	Hérault	0	Pyrénées (Basses-)..	10
Alger	0	Ille-et-Vilaine.....	16	Pyrénées (Hautes-)..	2
Ardèche	0	Indre	27	Pyrénées-Orientales.	0
Ardennes	0	Indre-et-Loire	3	Rhin (Haut-).....	0
Ariège	0	Isère.....	4	Rhône	0
Aube	3	Jura	2	Saône (Haute-).....	2
Aude	0	Landes.....	12	Saône-et-Loire	6
Aveyron	17	Loir-et-Cher	0	Sarthe	13
Bouches-du-Rhône ..	0	Loire	0	Savoie	0
Calvados	9	Loire (Haute-).....	9	Savoie (Haute-).....	2
Cantal	4	Loire-Inférieure	4	Seine	623
Charente	11	Loiret.....	0	Seine-et-Marne	7
Charente-Inférieure ..	20	Lot	28	Seine-et-Oise.....	120
Cher	14	Lot-et-Garonne	8	Seine-Inférieure	5
Constantine	0	Lozère	7	Sèvres (Deux).....	8
Corrèze	10	Maine-et-Loire	10	Somme	11
Corse	0	Manche	13	Tarn	2
Côte-d'Or.....	5	Marne	0	Tarn-et-Garonne.....	6
Côtes-du-Nord.....	30	Marne (Haute-).....	2	Var	0
Creuse	22	Mayenne.....	7	Vaucluse.....	0
Dordogne.....	30	Meurthe-et-Moselle.	3	Vendée	13
Doubs.....	3	Meuse	0	Vienne	9
Drôme	0	Morbihan	4	Vienne (Haute-).....	12
Eure	3	Nièvre	2	Vosges.....	3
Eure-et-Loir.....	0	Nord	0	Yonne.....	0

PERSONNES PRISES DE RAGE EN COURS DE TRAITEMENT

M^{me} **HARDIVILLER** Berthilde, 47 ans, demeurant rue des Carrières à Suresnes. :

Mordue le 12 février à la lèvre supérieure, côté droit; morsure pénétrante et déchirure nécessitant un point de suture; non cautérisée. La tête du chien a été remise à l'Institut Pasteur et le bulbe, inoculé le 16 février à un lapin, a donné la rage le 15 mars. M^{me} Hardiviller a été traitée à l'Institut Pasteur du 14 février au 6 mars; les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle les derniers jours de son traitement. Morte le 10 mars.

Le même chien a mordu 2 autres personnes, qui ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur, et qui se portent bien.

HEISSAT Émile, 29 ans, demeurant à Londronde (Vendée). Mordu le 24 janvier, lèvre supérieure 3 cicatrices, menton côté

droit 1 cicatrice; mordu par un chien dont la tête a été envoyée à l'Institut Pasteur, et le bulbe, inoculé le 26 janvier à un lapin, a donné la rage le 17 février. Un cheval mordue en même temps que Heissat a été pris de rage le 24 février.

Traité du 20 février au 10 mars. Heissat est mort à l'hôpital Pasteur le 10 mars, il était malade depuis plusieurs jours. Son bulbe, inoculé à 2 lapins, a donné la rage 24 jours après.

DENIS Henri, 4 ans, demeurant chez son père, rue des Fontaines, 17, à Paris. Mordu le 21 septembre, joue droite une éraillure faite par la dent du chien et léchée ensuite par ce même chien. La plaie a été lavée au vinaigre. Traité du 23 septembre au 13 octobre; les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 13 octobre. Mort le 17 octobre.

Le chien avait été reconnu enragé par un vétérinaire.

PERSONNES TRAITÉES, MORTES DE RAGE APRÈS LE TRAITEMENT

AUPETIT Henri, 62 ans, 102, rue de Clignancourt, à Paris. Mordu le 21 juin au pouce gauche, par un chien reconnu enragé par un vétérinaire, 1 morsure pénétrante qui a saigné, La blessure a été lavée au vinaigre de suite après.

Aupetit a été traité à l'Institut Pasteur du 24 juin au 11 juillet. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 5 août. Mort le 6 août à l'hôpital Lariboisière.

JEUNEHOMME Albert, 30 ans, 14, passage Parmentier, à Paris. Mordu le 13 juillet 1901, aux deux mains; plusieurs morsures dont deux très profondes ont saigné beaucoup. Chien reconnu enragé par un vétérinaire. Plaie non cautérisées.

Jeunehomme a été traité à l'Institut Pasteur du 16 juillet au 2 août. Entré à l'hôpital Lariboisière le 24 avril 1902, présentant des symptômes rabiques, mort le jour même. Son bulbe, envoyé à l'Institut Pasteur, a été inoculé le 29 avril à 2 lapins qui n'ont encore donné aucun résultat. Cinq autres personnes mordues par le même chien et traitées à l'Institut Pasteur se portent bien.

BOULINGREJ.-Baptiste, 72 ans, demeurant à Livry (S.-et-O.) Mordu le 19 juillet au poignet droit; 2 morsures pénétrantes qui ont saigné beaucoup. Chien reconnu enragé par un vétérinaire.

Plaies non cautérisées. Boulingre a été traité à l'Institut Pasteur du 20 juillet au 6 août. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 23 août. Mort le 26 août.

NAVARRÉ Louis, 6 ans, demeurant chez son père, 30, rue de Sambre-et-Meuse, à Paris. Mordu le 13 septembre, sous le menton côté droit, 1 morsure pénétrante; lèvre supérieure et lèvre inférieure, chacune 1 morsure pénétrante. Le chien, jeté dans le canal aussitôt, n'a pu être examiné par un vétérinaire.

Navarre a été traité à l'Institut Pasteur du 17 septembre au 7 octobre. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 26 octobre. Mort à l'hôpital Pasteur le 28.

ROCHELLE Louis, 46 ans, 4, rue Bayard à Paris. Mordu le 14 octobre à la main droite, face dorsale et face palmaire; 6 morsures profondes qui ont saigné. Lavées seulement à l'eau salée. Mordu par un chat reconnu enragé par un vétérinaire.

Rochelle a été traité à l'Institut Pasteur du 26 octobre au 12 novembre. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 26 décembre. Mort à l'hôpital Pasteur le 29 décembre.